

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

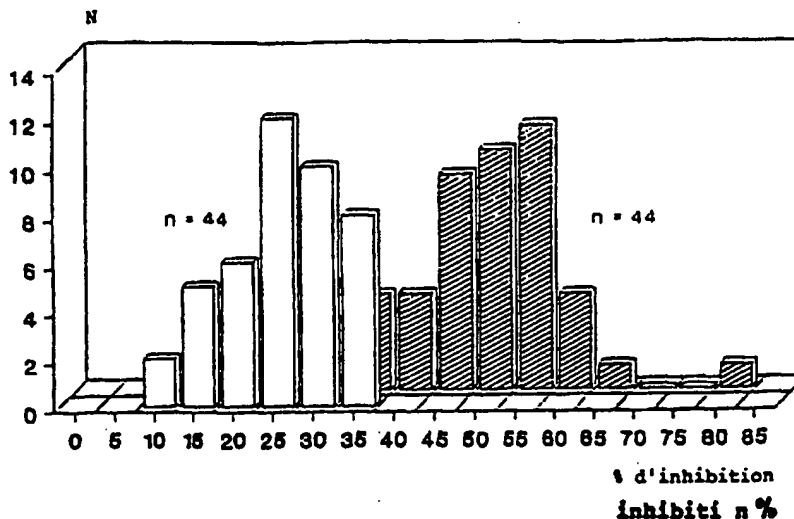
(51) Classification internationale des brevets ⁶ : G01N 33/574, 33/564, 33/68		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 96/36880
			(43) Date de publication internationale: 21 novembre 1996 (21.11.96)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/BE96/00052 (22) Date de dépôt international: 20 mai 1996 (20.05.96) (30) Données relatives à la priorité: 9500457 19 mai 1995 (19.05.95) BE (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITE LIBRE DE BRUXELLES [BE/BE]; 50, avenue F.-D.-Roosevelt, B-1050 Bruxelles (BE). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): DUCHATEAU, Jean [BE/BE]; 60, rue des Champs-Élysées, B-1050 Bruxelles (BE). CASIMIR, Georges [BE/BE]; 60, avenue Van Becelaere, B-1170 Bruxelles (BE). SERVAIS, Geneviève [BE/BE]; 2, chemin de la Noire-Agasse, B-7060 Horrues (BE). (74) Mandataires: VAN MALDEREN, Eric etc.; Office Van Malderen, 6/1, place Reine-Fabiola, B-1083 Bruxelles (BE).		(81) Etats désignés: AL, AM, AU, BB, BG, BR, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KP, KR, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, TR, TT, UA, US, UZ, VN, brevet ARIPO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.	

(54) Title: METHOD FOR DETECTING AND/OR QUANTIFYING LIGANDS SPECIFIC TO A PATHOLOGIE ASSOCIATED TO AN ALLERGIC OR AUTO-IMMUNE REACTION OR TO LUNG CANCER

(54) Titre: PROCEDE DE DETECTION ET/OU DE QUANTIFICATION DE LIGANDS SPECIFIQUES D'UNE PATHOLOGIE LIEE A UNE REACTION ALLERGIQUE OU AUTO-IMMUNE OU DU CANCER DU POUMON

(57) Abstract

The present invention relates to a method for detecting and/or quantifying ligands specific to a pathology such as pathologies associated to an allergic or autoimmune reaction and lung cancer, and which are present in a body fluid of a patient, characterized in that a sample of body fluid is taken from the patient; the ligands present in the sample are reacted in a competitive test with other discriminatable ligands, the latter reacting with at least one antigenic structure specific to said pathology; and the inhibition of the reaction between the discriminatable ligands and the antigenic structures specific to the pathology is detected and/or quantified by the ligands present in the sample.



(57) Abrégé

La présente invention concerne un procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, et présents dans un fluide corporel d'un patient, caractérisé en ce que: on prélève un échantillon du fluide corporel du patient, on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon avec d'autres ligands discriminables, lesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique spécifique de ladite pathologie, et on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands présents dans l'échantillon.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brazil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroon	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

5

10 PROCÉDÉ DE DÉTECTION ET/OU DE QUANTIFICATION DE LIGANDS
 SPÉCIFIQUES D'UNE PATHOLOGIE LIÉE A UNE RÉACTION
 ALLERGIQUE OU AUTO-IMMUNE OU DU CANCER DU POU MON

15 Objet de l'invention.

 La présente invention concerne un procédé de
détection et/ou de quantification de ligands spécifiques
d'une pathologie liée à une réaction allergique ou auto-
immune ou du cancer du poumon, un complexe immunoréactif, un
20 ou plusieurs épitopes d'un allergène, l'anticorps dirigé
contre ledit complexe immunoréactif ou contre lesdits
épitopes, un dispositif de détection et/ou une composition
pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire contenant ledit
complexe immunoréactif, lesdits épitopes et/ou ledit
25 anticorps.

 La présente invention concerne également
l'utilisation dudit complexe, desdits épitopes et dudit
anticorps pour la prévention et/ou la thérapie de pathologies
liées à une réaction allergique ou auto-immune ou du cancer
30 du poumon.

Arrière-plan technologique et état de la technique à la base de l'invention.

L'allergie est une réaction d'hypersensibilité provoquée par le contact avec un allergène.

- 5 L'allergie chez les êtres humains est dépendante de prédispositions génétiques, mais différents facteurs environnementaux peuvent influencer le développement des manifestations allergiques.

Les manifestations allergiques respiratoires
10 (asthme, rhume des foins, ...) ou cutanées (urticaire, eczéma, ...) ou des manifestations allergiques digestives, nerveuse, réno-vésicales, cardiaques, articulaires, oculaires peuvent être dues à l'absorption ou au contact par manipulation de produits d'origine animale (poils), végétale
15 (poussière de bois, fibres textiles, pollen, ...) ou de produits chimiques (antibiotiques, neuroleptiques, ...).

En outre, de nombreuses études cliniques ont suggéré une relation entre la réaction d'hypersensibilité et le cancer, en particulier entre l'atopie respiratoire et le
20 cancer des surfaces mucosales (Meers P. D., Allergy and Cancer, Lancet 1983, 1, pp. 884 - 885).

La réaction immunitaire vis-à-vis de certaines allergies telles que l'anaphylaxie ou l'atopie, est une des formes d'allergie incluant une hypersensibilité immédiate.

- 25 La réaction immunitaire allergique implique les immunoglobulines de classe E (IgE).

Le complexe formé entre les allergènes spécifiques et les IgE fixés sur des cellules basophiles induit la libération de molécules telles que l'histamine, la
30 sérotonine, l'héparine, ... , qui peuvent notamment provoquer la constriction prolongée des cellules musculaires des bronches (Hood et al., Immunology, deuxième édition, de

Benjamin/Cumming Publishing Corporation, Inc. (1984)).

Différentes techniques ont été proposées pour diagnostiquer la présence d'anticorps de type IgE à l'encontre de certains allergènes spécifiques (allergènes
5 impliquée dans la réaction allergique vis-à-vis des pollens, des poils de chat et de chien, ...) (Pharmacia - Cap System ®, Phadebas RAST ®, Phadezym RAST ®, ...).

Cependant, il apparaît que d'autres classes d'anticorps réagissent également spécifiquement vis-à-vis de
10 certains allergènes (classe d'immunoglobulines de type IgM, IgA et IgG).

En outre, il est à noter que les immunoglobulines de classe G sont, contrairement aux immunoglobulines de classe E, présentes en plus grande quantité chez un patient,
15 en particulier chez les enfants en bas âge.

Les pools d'immunoglobulines de classe G (caractérisés par une demi-vie de longue durée) peuvent donc être plus facilement détectés.

De nombreux travaux ont été également effectués sur
20 les allergènes et sur des épitopes particuliers de ceux-ci. Ainsi, des travaux ont été réalisés sur les allergènes présents dans le lait de vache.

En particulier, il a été reconnu qu'il était possible d'obtenir une tolérance des enfants en bas âge vis-
25 à-vis du lait en utilisant à titre de produit diététique des extraits d'un hydrolysate de protéines du lait de vache.

Dans la demande de brevet EP-0 629 350, on décrit l'utilisation d'un hydrolysate de protéines de lait pour la préparation d'une composition diététique permettant
30 l'induction d'une tolérance au lait de vache pour des enfants susceptibles de développer une allergie au lait de vache.

Cet hydrolysate de lait dépourvu de protéines allergéniques est obtenu en soumettant les allergènes à un traitement par trypsine et chymiotrypsine en présence d'une élastase.

- 5 Selon ce document, on démontre que les enfants traités seraient devenus tolérants vis-à-vis du lait de vache par le fait qu'ils présenteraient une réaction immunitaire cellulaire atténuée.

10 Buts de l'invention.

La présente invention vise à mettre au point un nouveau procédé et un nouveau dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie liée à une réaction allergique ou auto-immune ou du cancer
15 du poumon.

Un but particulier de la présente invention vise à mettre au point ledit procédé et ledit dispositif qui pourraient être utilisés dans le diagnostic de patients qui présenteraient éventuellement de faibles productions en
20 immunoglobulines de classe E.

La présente invention vise également à fournir une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène et/ou pour le traitement et/ou la
25 prévention de syndromes liés à une pathologie immunitaire, en particulier les allergies, les maladies auto-immunes et/ou le cancer du poumon.

Un but complémentaire de la présente invention vise à utiliser ladite composition de manière prophylactique et/ou
30 thérapeutique pour modifier la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène, en particulier si le patient est un nouveau-né.

Eléments caractéristiques de l'invention.

La présente invention concerne un nouveau procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, lesdits ligands étant présents dans un fluide corporel d'un patient (tel que le sérum ou le liquide céphalo-rachidien), ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- 10 - on prélève un échantillon du fluide corporel du patient,
- on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon avec d'autres ligands discriminables par rapport aux ligands présents dans l'échantillon, lesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique (de préférence fixée sur un support solide) spécifique de ladite pathologie, et
- 15 - on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands
- 20 présents dans l'échantillon.

On entend par "pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune", les réactions d'hypersensibilité de type immédiat ou différé provoquées par le contact avec un allergène. Cette réaction peut être immédiate et spécifique (anaphylaxie, urticaire, ...) ou différée dans le temps.

Cette pathologie comprend également les maladies auto-immunes et/ou les infections conduisant à un désordre du système immunitaire. L'auto-immunité est un état d'immunisation d'un sujet contre ses propres constituants.

La production par un organisme d'anticorps dirigés contre ses propres constituants a été observée dans un certain nombre de pathologies, telles que les infections liées au SLE (Systemic Lupus Erythematosus disease), le
5 syndrome Gougerot-Sjögren (ou pathologie Sjögren), la polyarthrite rhumatoïde, etc. D'autres exemples de maladies ayant ces caractéristiques sont également des pathologies telles que sarcoidosis et osteopenia, spondylarthritis, scleroderma, multiple sclerosis, amyotrophic lateral
10 sclerosis, hyperthyroidism, maladie d'Addison, auto-immune haemolytic anaemia, maladie de Crohn, syndrome de Goddpasture, maladie de Graves, Hashimoto's thyroiditis, idiopathic purpura haemorrhagica, diabète insulino-dépendants, myasthenia, pemphigus vulgaris, pernicious
15 anaemia, poststreptococcal glomerulonephritis, psoriasis et stérilité spontanée.

Cette pathologie peut être également un syndrome d'hyperprolifération, en particulier le cancer du poumon.

Selon l'invention, les ligands sont choisis parmi
20 le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell, telles que les macrophages, les cellules dendritiques), les récepteurs des cellules APC, les anticorps (monoclonaux ou polyclonaux) ainsi que leurs fragments (portions Fab des anticorps) et/ou un mélange d'entre eux.

25 De préférence, les ligands selon l'invention sont des immunoglobulines de classe G.

On entend par "ligands discriminables par rapport aux ligands présents dans l'échantillon", des ligands différents de ceux présents dans l'échantillon et qui sont
30 susceptibles d'être identifiés et/ou quantifiés de manière sélective par différents moyens chimiques ou physiques. De tels moyens peuvent par exemple être un marquage desdits

ligands au moyen d'un marqueur radioactif, enzymatique, chemoluminescent, bioluminescent, ou biochimique (biotine).

Lesdits ligands peuvent également être des ligands spécifiques d'une espèce animale. De préférence, les ligands
5 selon l'invention sont des immunoglobulines de classe G. Selon une forme d'exécution préférée de l'invention, les ligands sont des immunoglobulines de classe Y purifiés à partir du jaune d'oeuf de poule. Il est donc possible d'utiliser le procédé de détection et/ou de quantification
10 selon l'invention en utilisant des ligands discriminables (IgY de jaune d'oeuf de poule) que l'on fait réagir sur une structure antigénique (par exemple un allergène) fixé sur un support solide et spécifique de ladite pathologie, lesdits IgY saturant la structure antigénique. On fait ensuite réagir
15 dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon, par exemple un sérum d'un patient malade ou d'un patient sain, comportant notamment des immunoglobulines avec lesdits IgY extraits de l'oeuf de poule.

Avantageusement, il est également possible de
20 rajouter de manière additionnelle au sérum à tester des immunoglobulines IgY extraites de l'oeuf de poule. Ensuite, on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction croisée entre les ligands discriminables, c'est-à-dire les IgY extraites de l'oeuf de poule, et la structure antigénique
25 spécifique de la pathologie (par exemple un allergène testé), par les ligands présents dans l'échantillon (c'est-à-dire les immunoglobulines présentes dans le sérum du patient testé).

Il est ensuite possible de comparer l'inhibition de la réaction de patients sains par rapport à celle de
30 patients souffrant de la pathologie testée.

Préférentiellement, la structure antigénique est un allergène choisi parmi le groupe constitué par les

allergènes majeurs présents dans le lait de vache, en particulier la β -lactoglobuline bovine (BLG), les antigènes majeurs intervenant dans les phénomènes allergiques vis-à-vis des plantes, (en particulier les allergènes des pollens), des animaux (en particulier les allergènes présents dans les poils d'animaux, les allergènes des venins d'animaux, l'antigène des acariens présents dans la poussière domestique, les antigènes responsables de l'allergie aux acariens, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux tel que décrit dans la publication ISBN 91-970475-5-4 Pharmacia AB incorporée ici par référence.

De préférence, la structure antigénique est un complexe antigénique spécifique d'une maladie auto-immune.

De préférence, cette structure antigénique est un marqueur spécifique du lupus (SLE) ou de la pathologie de Sjögren, en particulier la membrane plasmique ou une portion de cette membrane contenant du DNA membranaire et ayant un poids supérieur à 100 KD, tel que notamment décrit dans la demande de brevet PCT/BE95/00100 dont le numéro de dépôt est incorporé par référence.

Ces complexes antigéniques ont également été décrits par Roitt I. M. (Essential Immunology, Blackwell Scientific Publication (chapitre 14) ISBN 0-632-01994-8) et par Humbel R. L. (Auto-anticorps et maladies auto-immunes, Ed. Scientifiques Elsevier (1994) ISBN 2-906077-58-5).

Cette structure antigénique peut être également un allergène présenté au niveau d'une muqueuse utilisée selon l'invention dans le diagnostic du cancer du poumon.

La présente invention concerne également un complexe immunoréactif comprenant au moins un allergène lié à un ligand, éventuellement marqué, réagissant spécifiquement

contre cet allergène.

On entend par "complexe immunoréactif", une liaison spécifique entre les allergènes ou les complexes antigéniques spécifiques d'une pathologie liée à une réaction auto-immune, et les ligands spécifiques précédemment décrits, susceptible d'être utilisée dans un dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques de la pathologie liée à une réponse allergique.

Un autre aspect de la présente invention concerne les épitopes allergéniques spécifiques d'un syndrome liés à une réponse allergique, en particulier les épitopes allergéniques de l'antigène de la β -lactoglobuline bovine (BLG) tels que décrits dans les figures 14 à 16 et les épitopes allergéniques de l'antigène DRP1 (Major Mite Fecal Allergene) et les épitopes allergéniques de l'antigène majeur LolP1 de *Lolium Perenne* tels que décrits dans les figures 34 et 35 respectivement.

La présente invention concerne également l'anticorps (monoclonal ou polyclonal) dirigé contre ledit complexe immunoréactif ou lesdits épitopes allergéniques selon l'invention.

Un autre aspect de l'invention concerne le dispositif de détection et/ou de quantification d'un ligand spécifique desdites pathologies, comprenant ledit complexe, lesdits épitopes et/ou ledit anticorps selon l'invention.

Le dispositif selon la présente invention comprend, en outre, des réactifs destinés à la détection et/ou à la quantification desdits ligands par un procédé choisi parmi le groupe constitué par la reconnaissance par des anticorps marqués, de manière isotopique ou non isotopique, sur filtre, sur support solide, sur gel, en solution, en "sandwich", par double immunodiffusion, par contre-immunoélectrophorèse, par

hémagglutination et/ou un mélange d'entre eux.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire humorale et/ou
5 cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène, comprenant ledit allergène, un ou plusieurs épitopes dudit allergène, le complexe immunoréactif selon l'invention, l'anticorps dirige contre ce complexe et/ou un mélange d'entre eux.

On entend par "modification de la réponse
10 immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène", la modification du pool d'anticorps réagissant de manière spécifique à l'encontre de certains épitopes allergiques, c'est-à-dire la capacité pour un patient d'avoir une production d'anticorps comparable à celle
15 d'un sujet sain telle qu'elle est diagnostiquée dans les exemples de la description.

Avantageusement, le patient est un nouveau-né et la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse ou l'allaitement maternel.

20 Un dernier aspect de la présente invention concerne l'utilisation de ladite composition pharmaceutique pour la préparation d'un médicament destiné à modifier la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène et/ou pour le traitement et/ou la prévention
25 de pathologies liées à une réponse allergique, en particulier le traitement et/ou la prévention d'allergies et/ou de cancers.

Selon une forme d'exécution préférée de cette utilisation, le patient est un nouveau-né et la composition
30 est administrée à la mère avant ou pendant la grossesse ou l'allaitement maternel.

Brève description des figures.

- Les figures 1 à 7 représentent l'influence de l'administration orale d'un hydrolysate de lait sur la réponse immunitaire d'un individu adulte à la β -lactoglobuline.
- Les figures 8 et 9 représentent la modulation de la réponse anticorps anti- β -lactoglobuline de nouveaux-nés en fonction de l'alimentation lactée de leur mère.
- Les figures 10 à 12 représentent la mesure de l'inhibition d'un pool d'immunoglobulines IgG marquées par le sérum de patients sains et intolérants à un allergène particulier.
- La figure 13 représente la mesure de l'inhibition d'un anticorps monoclonal marqué par le sérum d'un patient sain et intolérant à un allergène.
- Les figures 14 à 16 représentent la reconnaissance spécifique de certains épitopes linéaires de l'allergène BLG par des pools d'immunoglobulines de sérum de patients sains, atteints d'allergie ou d'un cancer du poumon.
- Les figures 17 à 31 représentent la mesure de l'inhibition d'un pool d'immunoglobulines IgG marquées par le sérum de patients sains et intolérants à un allergène particulier (antigène SEB de l'entérotoxine de staphylocoque,

antigène DPT spécifique de l'allergie aux acariens, antigènes G1 et LolPl spécifiques de l'allergie au pollen de la graminée d'*Antoxanthum odoratum* et Lolium Perenne et antigène majeur du venin de guêpe).

5

La figure 32

10

représente la mesure de l'inhibition d'un pool d'IgG obtenues d'un individu sain fixées sur un complexe antigénique spécifique du lupus et éventuellement du Sjögren par différents sera issus de patients souffrant de la pathologie du lupus, de la pathologie de Sjögren et de patients sains à différentes dilutions de sérums.

15

La figure 33

20

représente la mesure de l'inhibition d'un pool d'IgG issues de patients souffrant des symptômes du lupus fixées sur un complexe antigénique spécifique du lupus et/ou du Sjögren par des sera issus de patients souffrant des symptômes du lupus, des symptômes du Sjögren ou de patients sains à différentes dilutions de sérum.

25

Les figures 34 et 35 représentent la reconnaissance spécifique de certains épitopes linéaires des allergènes DRP1 et LolPl par des pools d'immunoglobulines de sérum de patients sains ou de patients allergiques.

30

La figure 36 représente l'inhibition de la liaison d'anticorps discriminables (IgY purifiées du jaune d'oeuf de poule) au complexe antigénique BLG par des anticorps IgG de différents sera.

Exemples.

1. Influence de l'administration orale d'un hydrolysât de lait sur la réponse IgG et IgM de souris adultes à la β -lactoglobuline.

Depuis l'invention des tests de détection d'anticorps par l'utilisation d'une surface recouverte d'un antigène comme les RASTS et les ELISAS (phase solide), mesurant des anticorps de plus faible affinité que les tests antérieurs (RIA; phase liquide), on s'est aperçu d'une chose qui reste étonnante, bien que jamais soulignée : de nombreux antigènes capables d'induire une réponse allergique par anticorps de classe IgE chez les malades, sont aussi capables d'induire des anticorps de classe IgG chez tous les individus, y compris les sujets sains, atopiques ou non. C'est le cas de la β -lactoglobuline (BLG), la lactalbumine et la caséine, les antigènes majeurs du lait de vache (LV), ou de pollens, du DPT et diverses moisissures pour les aéroallergènes.

Pourtant, il ne suffit pas qu'une protéine soit ingérée pour induire cette réponse; chacun ne fait pas de tels anticorps contre l'albumine de boeuf ou la gliadine du blé, par exemple. Considérant l'allergie comme un cas particulier de réponse immune généralement répandue, il est important d'analyser aussi cette réponse chez les sujets non allergiques, car elle singularise déjà certains antigènes parmi d'autres protéines alimentaires.

La réponse IgG anti-BLG (et IgA) est dirigée contre des épitopes qui diffèrent partiellement entre sujets allergiques symptomatiques et sujets guéris ou sains.

Des souris syngéniques de trois souches distinctes (l'une domestique, les autres BalbC et C57Bl) nourries sans lait depuis 5 générations au moins et âgées de 6 semaines ont été réparties en groupes égaux de 8 animaux et soumises à des régimes différents (voir figure 1).

Le premier consistait à recevoir de l'eau comme unique boisson pendant 72 jours, l'autre consistait à recevoir de l'eau pendant 6 semaines puis un hydrolysât commercial de lait de vache (NANHA[®] de Nestlé), pendant 30 jours. Ensuite, toutes les souris ont reçu du lait de vache dilué de 1/3 dans leur eau de boisson. On mesure les anticorps IgG et IgM au jour 0 (début du lait entier à 1/3) et 30 jours plus tard vis-à-vis de la β -lactoglobuline (BLG) comme représentant de l'allergénicité du lait, par une méthode d'ELISA, en utilisant la BLG intacte (n-BLG à l'état natif) et des peptides obtenus par digestion pepsinique de la BLG (d-BLG) (voir figs. 2 à 7).

Il apparaît que :

- le régime alimentaire constitué par des granules déclarés sans addition de lait n'est cependant pas entièrement dépourvu d'antigènes de lait (contamination à la production). Les mesures montrent cependant que l'apport est 30 fois inférieur à celui de l'équivalent antigénique fourni par l'hydrolysât de lait. Ceci explique que même les souris ne recevant que de l'eau comme boisson ont développé des anticorps anti-BLG;
- la pré-nutrition des souris à l'hydrolysât de lait influence manifestement la réponse IgM et IgG vis-à-vis de la β -lactoglobuline;

- ceci dépend de la souche sélectionnée et indique donc un déterminisme génétique;
- enfin, la spécificité des anticorps est ainsi modifiable puisque les titres mesurés sur n-BLG et d-BLG ne varient pas de façon parallèle, indiquant donc une modulation
5 différente selon la catégorie ou le type d'épitopes (ici, conformationnels; versus structurels);
- ceci est observé pour les IgM (demi-vie courte) (voir
figs. 2 et 3) mais déjà observable aussi pour les IgG
10 (voir figs. 5 et 6).

2. Modulation de la réponse anticorps anti-BLG de souriceaux au moment du sevrage en fonction de l'alimentation lactée de leur mère.

15 Dans ce même modèle, on administre du lait entier à la concentration de 1/1 ou 1/30 dans le lait de boisson à des souris en âge de se multiplier et appartenant à la souche domestique. On mesure les anticorps des souriceaux à l'âge de 4 semaines en tenant compte du délai entre le début du régime maternel et la date de naissance (et donc de la
20 conception) (voir figs. 8 et 9).

Il apparaît que le régime alimentaire de la mère fait indéniablement varier les titres et la spécificité des anticorps de sa progéniture selon le délai entre
25 l'instauration du régime maternel et celui de la conception, et d'autre part en fonction de l'apport quantitatif de lait.

L'ensemble de ces données permet de montrer que les manipulations à la fois quantitatives et qualitatives du rapport alimentaire en antigènes de lait a une influence sur
30 la réponse immune de souris adultes, tant pour le titre des anticorps que pour la spécificité épitopique. Ceci est vrai pour leur propre réponse et pour celle qui apparaîtra chez

leur progéniture. Cette influence de la réponse de la progéniture par la manipulation de la diète maternelle rend vraisemblable l'hypothèse d'une manipulation de la réponse de bébés contre les antigènes de lait en modifiant l'apport et la qualité des antigènes de lait fournis à la mère avant et durant sa grossesse.

Il est donc possible d'apporter chez un nouveau-né une tolérance immunitaire (humorale, mais probablement aussi cellulaire) vis-à-vis d'un syndrome lié à une réponse allergique en traitant la mère du nouveau-né avant et/ou pendant sa grossesse. Ce traitement prophylactique permet donc d'éviter chez un patient un traitement thérapeutique lourd de longue durée et coûteux durant l'enfance et/ou l'adolescence.

15

3. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une réponse allergique.

a. Réponse allergique à la β -lactoglobuline.

La β -lactoglobuline du lait de vache utilisée comme allergène est fixée sur un support solide.

On identifie des groupes d'individus par un test de compétition entre des immunoglobulines marquées (ces immunoglobulines sont fixées à de la biotine et révélées par la réaction d'une enzyme peroxydase liée à de la polystyrenevidine) et les sérums de patients (test ELISA).

On analyse le sérum de 44 individus sains (CM tolérants) et de 44 individus présentant une intolérance au lait de vache (CM intolérants).

L'analyse de ces résultats indique qu'il est possible d'identifier les groupes d'individus sains et intolérants au lait de vache par rapport à leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène (voir figure 10).

Cette réaction s'observe également avec des allergènes constitués de l'allergène BLG natif (n-BLG) ou digérés à la pepsine (d-BLG) (voir figs. 11 et 12).

Un test de compétition a également été réalisé en utilisant une compétition entre des anticorps monoclonaux de souris M7 marqués comme précédemment et des sérums de patients.

La figure 13 donne le résultat de ce test de compétition qui permet d'identifier les individus sains (44 CM tolérants et 65 donneurs de sang (BD)) et les 44 individus présentant une intolérance au lait de vache (CM intolérants).

Par conséquent, certains anticorps monoclonaux permettent d'identifier de manière préférentielle dans cette compétition les individus présentant une intolérance au lait de vache.

b. Caractérisation des épitopes linéaires d'un allergène spécifique de certains syndromes.

Une relation entre l'atopie et le cancer du poumon a été décrite dans différentes publications (Mc Duffie H. H. et al., Chest 1988; 93 pp. 241 - 246; Chest 1991; 99 pp. 404-407, et Michils et al., Cancer 1992; 69 pp. 2252 - 2257).

Certains allergènes (BLG, antigène p1 de la mite présente dans la poussière domestique (Dermatophagoïdes pteronyssinus) induisent la production d'immunoglobulines chez des patients atteints de cancer.

Par conséquent, la Demanderesse a cherché à identifier les épitopes linéaires particuliers de l'allergène BLG susceptibles de réagir avec des immunoglobulines G présentes dans le sérum de patients atteints d'un cancer.

On synthétise sur une phase solide des octapeptides composant une suite successive de 8 acides aminés dans

l'ordre de la structure primaire de la BLG.

On révèle ensuite des peptides ayant permis de fixer des immunoglobulines G biotinées et provenant d'un pool de 12 sujets, qui sont soit allergiques au lait, soit
5 normaux, soit atteints d'un cancer du poumon.

La révélation de la fixation des anticorps est faite par de la streptavidine couplée à de la β -galactosidase (voir figures 13 à 15). Dans ces figures, on identifie certains épitopes particuliers reconnus uniquement par des
10 pools d'immunoglobulines d'un sérum de patients atteints d'un cancer du poumon ou uniquement reconnus par les immunoglobulines présentes dans le sérum d'un patient allergique au lait.

Une procédure similaire a été utilisée pour
15 caractériser les épitopes linéaires des allergènes DRP1 et LolP1 (figures 34 et 35).

Par conséquent, il est possible de caractériser une "signature" précise d'une pathologie (allergie, cancer, cancer et allergie).

20 En conclusion, sur base des exemples susmentionnés, il est possible de caractériser une pathologie liée à une réponse allergique par le fait que le système immunitaire de patients sains, par rapport à des patients malades, reconnaît spécifiquement certains épitopes d'allergènes par des
25 anticorps spécifiques.

Il est donc possible de modifier cette réponse immunitaire en présentant à des patients un choix particulier d'épitopes allergiques ou non allergiques pour diagnostiquer une pathologie liée à une réponse immunitaire ou pour obtenir
30 une prévention ou une thérapie de cette pathologie liée à une réponse allergique.

En particulier, il est possible de moduler cette réponse d'anticorps spécifiques chez des nouveaux-nés en additionnant une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

- 5 Comme le démontrent les figures 11 et 12, il est possible d'utiliser comme référence marquée un pool d'immunoglobulines spécifiques d'un épitope d'un allergène caractéristique d'un profil épitopique normal (individus CM tolérants) et de diagnostiquer les individus normaux (CM
10 tolérants caractérisés par leur important pourcentage d'inhibition) et les individus intolérants au lait de vache (CM intolérants caractérisés par leur faible pourcentage d'inhibition).

15 4. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une réponse allergique vis-à-vis de différents allergènes majeurs.

- Le diagnostic de différents groupes d'individus a pu être effectué vis-à-vis de certains antigènes majeurs de
20 différentes allergies selon la procédure expérimentale telle que décrite dans l'exemple précédent.

- Les différents allergènes ont été fixés sur un support solide. On identifie des groupes d'individus par un test de compétition entre des immunoglobulines marquées et
25 les sera de patients.

a. Eczéma et réaction à l'antigène SEB de l'entérotoxine de staphylocoque

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
5	17 <u>Allergie aux acariens</u>		IgG	SEB
	- eczéma enfants	22	d'enfants	entérotoxine de
	- eczéma adultes	39	avec eczéma	staphylocoque
	<u>Contrôles</u>			
	- enfants sains	22		
10	- adultes sains	48		
	- psoriasis adultes	8		

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
15	18 <u>Allergie aux acariens</u>		IgG	SEB
	- eczéma enfants	31	d'enfants	entérotoxine de
			avec eczéma	staphylocoque
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	50		
	- psoriasis adultes	4		

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
20	19 <u>Allergie aux acariens</u>		IgG	SEB
	- eczéma adultes	31	d'adultes	entérotoxine de
			sains	staphylocoque
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	50		
25	- psoriasis adultes	4		

L'analyse des résultats des figures 17 à 19 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains

et présentant une allergie aux acariens (enfants et adultes) par leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène.

Cette allergie active aux acariens se présente sous la forme d'un eczéma, qu'il soit adulte ou enfant.

5 On peut conclure que les anticorps de malades souffrant d'une allergie active aux acariens reconnaissent sur l'antigène majeur des épitopes particuliers peu ou mal reconnus par les anticorps sériques des sujets sains, qu'ils soient adultes ou enfants, ou encore atteints d'une maladie
10 de peau non allergique comme le psoriasis, utilisés comme contrôle.

Il semblerait que des épitopes particuliers soient de type conformationnel car toute altération physique de l'antigène SEB (comme celle qui suit les congélations/dégels
15 répétés) modifie la sensibilité des tests.

b. Eczémas de type rhinite et asthmes allergiques

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
20	<u>Allergie aux acariens</u>		IgG	DPT
20	- eczéma adultes	29	d'adultes	
	- rhinite	17	avec eczéma	
	- asthme	40		
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	64		
25	- psoriasis	4		

L'analyse des résultats figurant à la figure 20 indique qu'il est également possible d'identifier des groupes d'individus sains et allergiques aux acariens (eczéma ou
30 rhinite ou asthme) par leur réaction spécifique vis-à-vis de

l'allergène DPT.

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
5	<u>Allergie au pollen G1</u>		IgG d'adultes avec eczéma	G1 = pollen de la graminée Antoxanthum odoratum
	- asthme	16		
	<u>Allergie aux acariens</u>			
	- eczéma adultes	31		
	<u>Contrôles</u>			
10	- adultes sains	50		
	- psoriasis	4		

L'analyse des résultats figurant à la figure 21 montre que les sujets allergiques aux acariens ressemblent aux sujets de contrôle pour l'inhibition d'IgG d'autres allergiques (eczéma) sur cet antigène de pollen, alors que les allergiques au pollen G1 se distinguent par une inhibition différente (moindre) de symptômes à l'égard de l'antigène testé. C'est l'expression de symptômes chez le sujet qui détermine le niveau de compétition spécifique entre sérum et IgG purifiées.

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
25	<u>Allergie aux acariens</u>		IgG de sujets sains	BLG β -lactaglobuline du lait de vache
	- eczéma adultes	31		
	<u>Contrôles</u>			
	- sujets sains	64		
	- psoriasis	4		

L'analyse des résultats figurant à la figure 22 indique les sujets allergiques et les sujets de contrôle ne diffèrent pas entre eux lorsqu'ils sont testés sur un
 5 antigène sans relation avec leur état.

c. Allergies respiratoires aux acariens

10	Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
	23	<u>Allergie aux acariens</u>		IgG	DPT
		- rhinite	17	d'allergi-	
		- asthme	39	ques	
		<u>Contrôles</u>			
		- adultes sains	64		

15	Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
	24	idem que pour la figure 23		IgG de contrôles	DPT

20	Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
	25	idem que pour la figure 23		IgG de contrôles	BLG

L'analyse des résultats présentés dans les figures 23 à 25 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains par rapport à des individus allergiques ou intolérants, par leur réaction spécifique vis-à-vis de
 25 l'allergène DPT ou BLG.

24

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
5	<u>Allergie aux acariens</u>		IgG de contrôles	G1
	- respiratoire	43		
	<u>Allergie au pollen G1</u>			
	- respiratoire	16		
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	50		

L'analyse des résultats présentés à la figure 26 indique que les allergiques aux acariens et les sujets de contrôle sont semblables à présent qu'ils sont testés sur pollen G1. Cependant, on distingue maintenant les allergiques au pollen G1 par rapport aux allergiques aux acariens et aux sujets de contrôles.

15

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
20	<u>Allergie au pollen LolPl</u>		IgG d'allergiques	LolPl
	- respiratoire	62		
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	63		

L'analyse des résultats présentés dans la figure 27 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains par rapport aux allergiques par leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène LolPl.

25

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
28	idem que pour la figure 23		Anticorps monoclonal de souris anti Der p1 n° M5	DPT

L'analyse des résultats présentés dans la figure 5 28 montre que les patients allergiques au DPT et sujets de contrôle inhibent différemment l'anticorps monoclonal sur le DPT, mais avec un chevauchement important des distributions.

10	Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
	29	idem que pour la figure 23		Anticorps monoclonal de souris anti Der p1 n° M6	DPT

L'analyse des résultats figurant à la figure 29 indique que les sujets de contrôle inhibent mieux que les allergiques alors que ceux-ci ont des titres plus élevés d'anticorps anti-DPT. Il ya donc reconnaissance d'épitopes distincts permettant d'identifier les différents groupes d'individus. L'épitope unique (reconnu ici par un anticorps monoclonal) est surtout reconnu par les sujets de contrôle et nettement moins bien par les allergiques.

20 L'analyse de ces différents résultats indique que les sujets allergiques aux acariens et qui souffrent de symptômes respiratoires reconnaissent par leurs anticorps

(notamment IgG) des épitopes différents de ceux des sujets sains ou souffrant d'allergie à l'égard d'un autre type d'allergène.

Ceci s'observe dans l'un ou l'autre sens selon le type d'anticorps (IgG purifiées ou anticorps monoclonal). Cette caractéristique ne semble cependant pas s'étendre à d'autres allergènes (BLG ou pollen G1), auxquels ils sont cliniquement indifférents. Ceci a pu également se vérifier à l'échelon d'un épitope singulier de type conformationnel (reconnu par un anticorps monoclonal).

d. Allergie au venin de guêpe

Fig	Type de patient	Eff	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
30	<u>All. au venin (IgE+)</u>		IgG d'allergiques au venin de guêpe	Venin de guêpe Vespula germanica
- symptômes systémiques avant vaccin	32			
- id. après 2 ans de vaccin (désensibilisés)	32			
- symptômes locaux	4			
	<u>Contrôles</u>			
- sujets sains	32			

L'analyse des résultats de la figure 30 montre que les sujets allergiques (en danger) se distinguent des sujets sains et des sujets désensibilisés par leur aptitude à mieux inhiber les IgG d'allergiques. Les sujets n'ayant présenté que des symptômes locaux sont semblables au sujets de contrôle.

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
31	idem que pour la figure 30		IgG de sujets désensibilisés	idem que pour la figure 30

L'analyse des résultats de la figure 31 indique que les sujets allergiques et les sujets désensibilisés se ressemblent et diffèrent des sujets de contrôle ou sensibilisés mais sans symptômes généralisés.

L'analyse de ces résultats indique que l'expression systémique des symptômes (généralisés) est associée à la reconnaissance d'épitopes particuliers sur les antigènes du venin de guêpe distincts de ceux reconnus par les sujets de contrôle, voire sensibilisés mais ne courant pas de danger d'anaphylaxie. La désensibilisation par immunothérapie spécifique fait perdre une partie de cette spécificité, sans pour autant faire revenir ces sujets à un spectre de reconnaissance d'épitopes complètement différent de celui des sujets à risque d'anaphylaxie avant traitement.

5. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une maladie auto-immune : lupus érythémateux disséminé (SLE)

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
32	<u>Malades</u>		IgG de SLE	ADN de membrane purifié
	- SLE	8		
	- Sjögren	8		
	<u>Contrôles</u>			
	- adultes sains	6		

L'analyse des résultats présentés dans la figure 32 montre qu'à diverses dilutions de sérum, les malades inhibent mieux les IgG de SLE que les sujets normaux (analyse 5 variance à une voie + correction de Scheffe : $p < 0,05$).

Fig	Type de patient	Eff.	Origine du pool d'IgG	Antigène utilisé
33	idem que pour la figure 32		IgG de sujets sains	ADN de membrane

10 L'analyse des résultats présentés dans la figure 33 montre que les sujets normaux inhibent mieux la liaisons anticorps que les sujets malades (SLE et Sjögren vs normaux : $p < 0,05$: anova + Scheffe) bien qu'ils aient des titres d'anticorps nettement plus faibles.

15 Par conséquent, le procédé selon l'invention permet également de discerner avec une spécificité fine la reconnaissance d'épitopes particuliers sur des molécules d'ADN de membrane par des auto-anticorps en fonction de l'état clinique (malades ou pas).

20

La figure 36 représente l'inhibition de la liaison d'IgY obtenues de jaune d'oeuf de poule au complexe antigénique BLG par des IgG issues de différents sera (patients allergiques, patients normaux, patients souffrant 25 d'un cancer du poumon).

Les IgY discriminables spécifiquement par rapport à des anticorps humains, sont extraits et purifiées à partir du jaune d'oeuf de poules, lesdites poules étant soit normales sans avoir été nourries au lait (oeuf type I), soit

ayant été immunisées per os au lait par administration de lait (oeuf type II).

Ces résultats montrent qu'il est possible d'obtenir une discrimination entre des individus allergiques et des
 5 individus normaux ou souffrant du cancer du poumon.

7. Composition cosmétique selon l'invention

	Composition	Pourcentage en poids
	Phase huileuse	
10	Tampon BRIJ 721	6.00
	Alcoolcétyle	10.00
	Huile minérale	3.00
	Propylparahydrobenzoate	0.002
	Phase aqueuse	
15	Carbopol 934 ®	0.15
	Hydroxyde de sodium	0.05
	Méthylparahydrobenzoate	0.18
	Epitopes selon l'invention	0.05 à 5.00
20	Total	100.00

La composition cosmétique selon l'invention peut être appliquée sous forme de crème directement sur la peau du patient.

Certains dérivés selon l'invention peuvent
 25 également être incorporés dans la phase huileuse de la composition cosmétique au lieu d'être dissous dans la composition aqueuse.

8. Composition alimentaire selon l'invention

30 Les épitopes spécifiquement allergiques obtenus de

la structure primaire de la BLG sont additionnés à un yoghourt à boire avec les ferments lactiques, un substitut de lait écrémé ainsi que des matières grasses obtenues après pasteurisation dans un échangeur thermique à plaque et après
5 incubation en cuve à 45 °C pendant environ 4 heures sous brassage.

8. Composition pharmaceutique comprenant les épitopes ou le complexe immunoréactif selon l'invention

10 Les épitopes ou le complexe immunoréactif selon l'invention sont additionnés à un véhicule pharmaceutique adéquat pour l'administration orale, par exemple sous forme de tablettes, enrobées ou non, de pilules, de capsules, de solution, d'huile essentielle et/ou de sirop. Pour d'autres
15 types d'application, d'autres véhicules pharmaceutiques peuvent être utilisés selon le mode d'administration choisi.

La composition pharmaceutique selon l'invention est préparée selon les procédés généralement utilisés par l'Homme du Métier, en particulier par les pharmaciens, et peut
20 comprendre tout véhicule ou tout adjuvant pharmaceutiquement adéquat, solide ou liquide et non toxique.

L'incorporation des épitopes ou du complexe immunoréactif selon l'invention dans un milieu galénique peut également être envisagé.

25 Le pourcentage de produit actif dans le véhicule pharmaceutique peut varier selon de très larges gammes, uniquement limitées par la tolérance ou le niveau d'acceptation du produit par le patient. Les limites sont généralement déterminées par la fréquence d'administration
30 et le mode d'administration au patient (intraveineuse, orale, etc).

REVENDICATIONS.

1. Procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, et présents dans un fluide corporel d'un patient, caractérisé en ce que :
- on prélève un échantillon du fluide corporel du patient,
 - on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon avec d'autres ligands discriminables, lesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique spécifique de ladite pathologie, et
 - on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands présents dans l'échantillon.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les ligands sont choisis parmi le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell), les récepteurs des cellules APC, les anticorps, leurs fragments et/ou un mélange d'entre eux.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que les ligands discriminables sont des ligands marqués.
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les ligands sont des immunoglobulines de classe G.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les ligands discriminables sont des immunoglobulines IgY extraites du jaune d'oeuf de poule.

5

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la structure antigénique est un allergène choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans
10 le lait, en particulier la β -lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de
15 réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène p1 du *Dermatophagoides pteronyssinus*), l'antigène majeur de l'*Aspergillus fumigatus*, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux.

20

7. Complexe immunoréactif comprenant au moins un allergène lié à un ligand, éventuellement marqué, réagissant spécifiquement contre cet allergène ou un complexe antigénique spécifique d'une pathologie liée à une réaction
25 auto-immune.

8. Complexe immunoréactif selon la revendication 7, caractérisé en ce que le ligand est choisi parmi le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell), les
30 récepteurs des cellules APC, les anticorps, leurs fragments et/ou un mélange d'entre eux.

9. Complexe immunoréactif selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le ligand est une immunoglobuline de classe G.

5 10. Complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que l'allergène est choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β -lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les
10 antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène p1
15 du *Dermatophagoïdes pteronyssinus*), l'antigène majeur de l'*Aspergillus fumigatus*, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux.

20 11. Epitope allergénique d'un allergène choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β -lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les
25 antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène p1 du *Dermatophagoïdes pteronyssinus*), l'antigène majeur de
30 l'*Aspergillus fumigatus*, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un

mélange d'entre eux.

12. Epitope allergénique de l'antigène de la β -lactoglobuline bovine (BLG) identifié dans les figures 14 à 5 16.

13. Epitope allergénique de l'antigène DERP1 identifié dans la figure 34.

10 14. Epitope allergénique de l'antigène LolPl identifié dans la figure 35.

15 15. Anticorps dirigé contre le complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 10 et/ou contre les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14.

20 16. Dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie liée à une réponse allergique comprenant le complexe selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14 et/ou l'anticorps selon la revendication 15.

25 17. Dispositif selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il comprend les réactifs destinés à la détection et/ou quantification des ligands par un procédé choisi parmi le groupe constitué par la reconnaissance par des anticorps marqués, de manière isotopique ou non 30 isotopique, sur filtre, sur support solide, sur gel, en solution, en "sandwich", par double immunodiffusion, par

contre-immunoélectrophorèse, par hémagglutination et/ou un mélange d'entre eux.

18. Composition pharmaceutique, cosmétique et/ou
5 alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène ou d'un complexe antigénique spécifique d'une pathologie liée à une réaction auto-immune, caractérisée en ce qu'elle comprend ledit allergène ou ledit complexe antigénique, l'hydrolysate dudit allergène, un ou
10 plusieurs épitopes de celui-ci, un complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, l'anticorps dirigé contre ledit complexe selon la revendication 15 et/ou un mélange d'entre eux.

15

19. Composition selon la revendication 18, caractérisée en ce que l'allergène est choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β -lactoglobuline bovine (BLG)
20 issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la
25 poussière de maison (antigène p1 du Dermatophagoïdes pteronyssinus), l'antigène majeur de l'*Aspergillus fumigatus*, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux.

20. Composition selon la revendication 18 ou 19, caractérisée en ce que le patient est un nouveau-né et que la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

5

21. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19 pour la préparation d'un médicament destiné à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène.

10

22. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 21, caractérisée en ce que le patient est un nouveau-né et que la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

15

23. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou la prévention de pathologies liées à une réaction allergique.

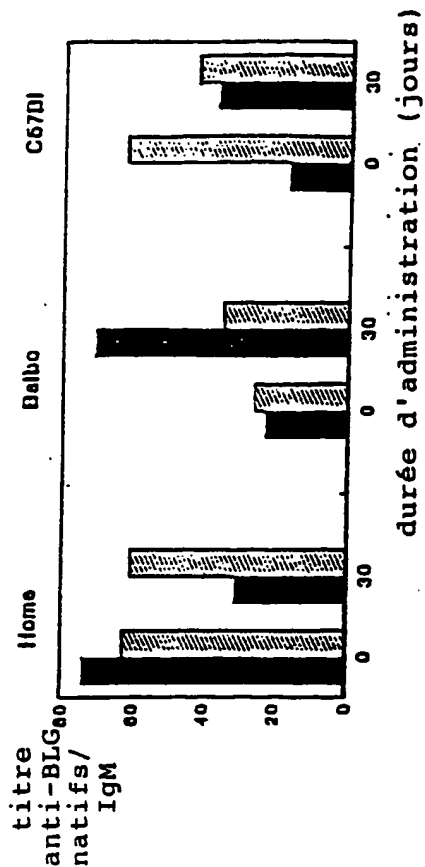
20

24. Utilisation selon la revendication 23, caractérisée en ce que le syndrome lié à une réponse allergique est le cancer.

25

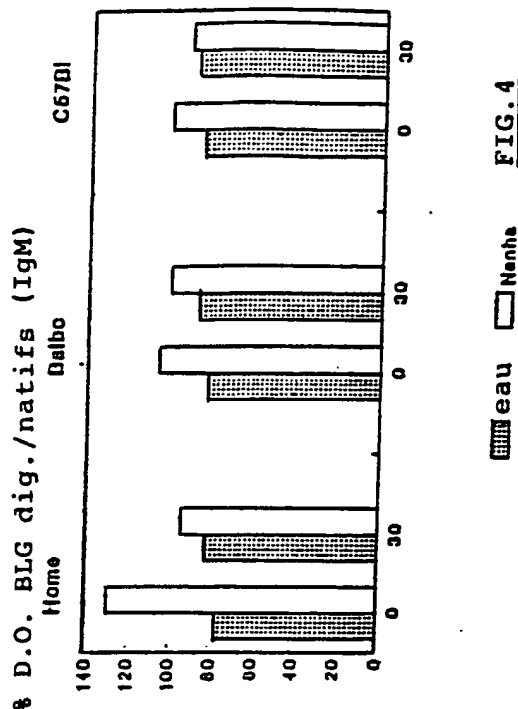
25. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19 pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou à la prévention de pathologies liées à une réaction auto-immune.

1/26



■ eau ▨ Nanha

FIG.2



■ eau ▨ Nanha

FIG.4

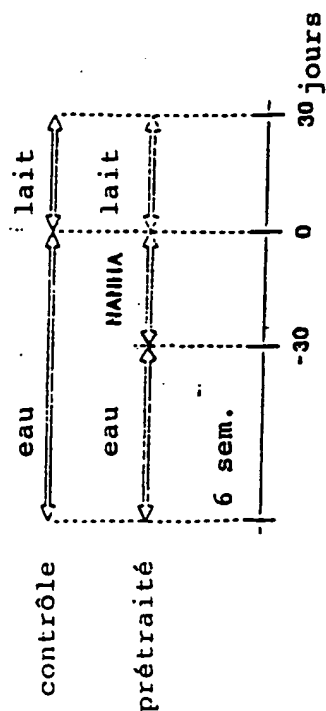
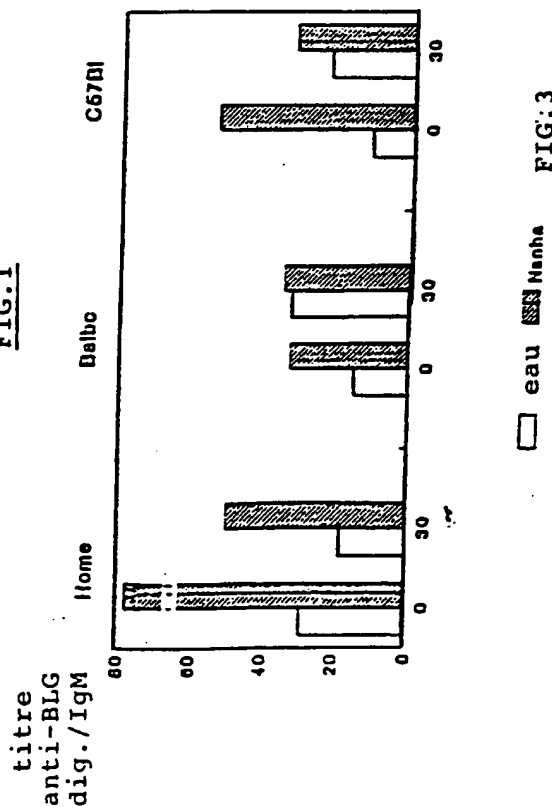


FIG.1



■ eau ▨ Nanha

FIG.3

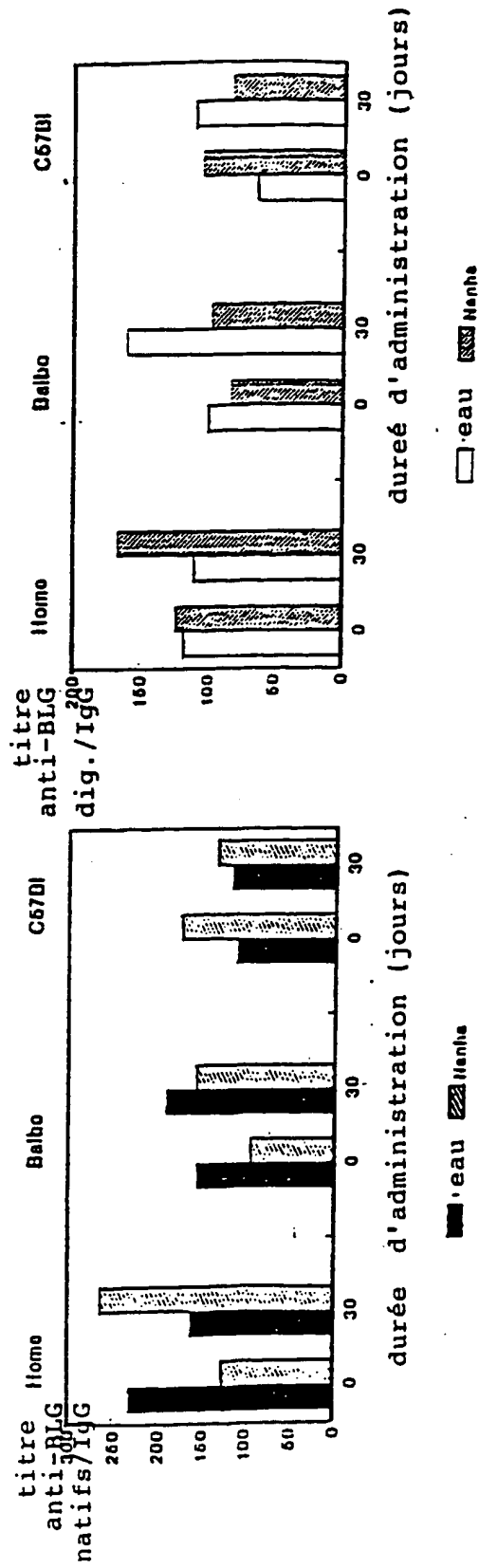


FIG. 5

% D.OBLG dig./natifs (IgG)

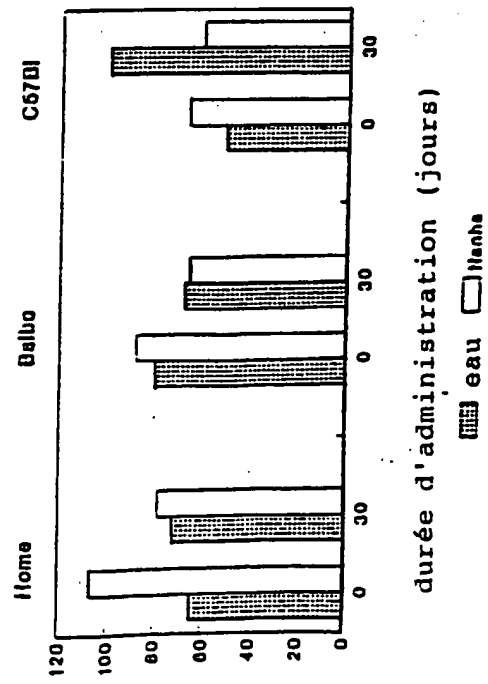
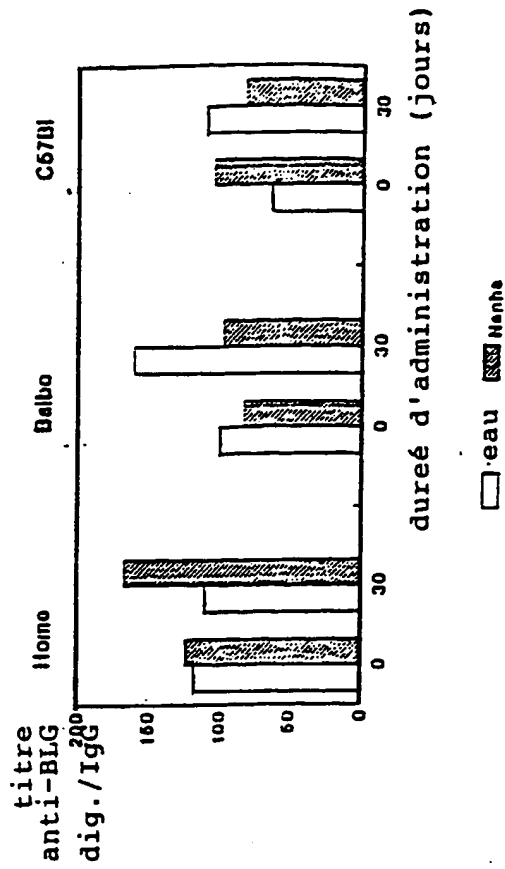


FIG. 7

FIG. 6



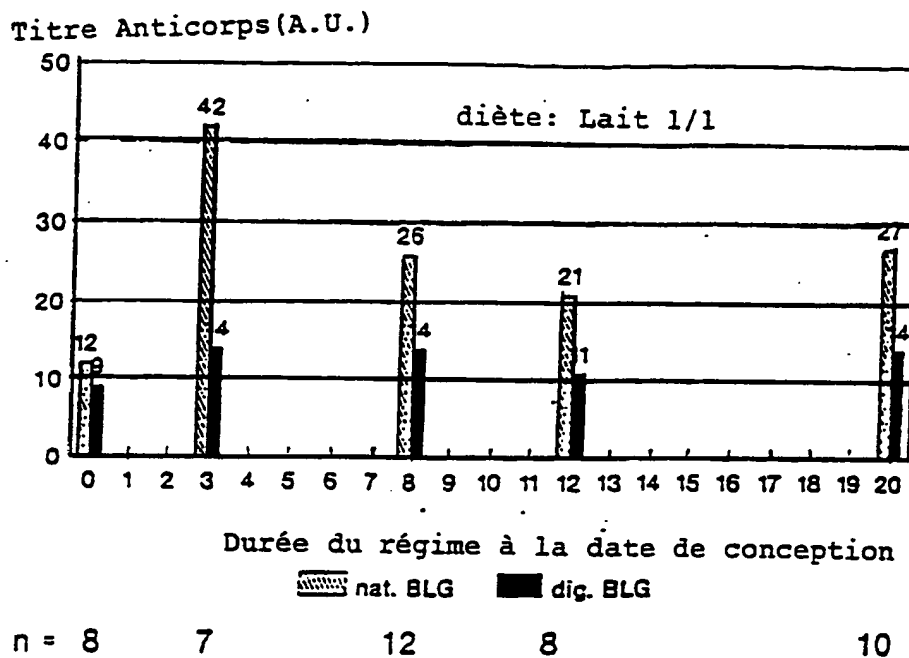


FIG.8

lignée : HOME

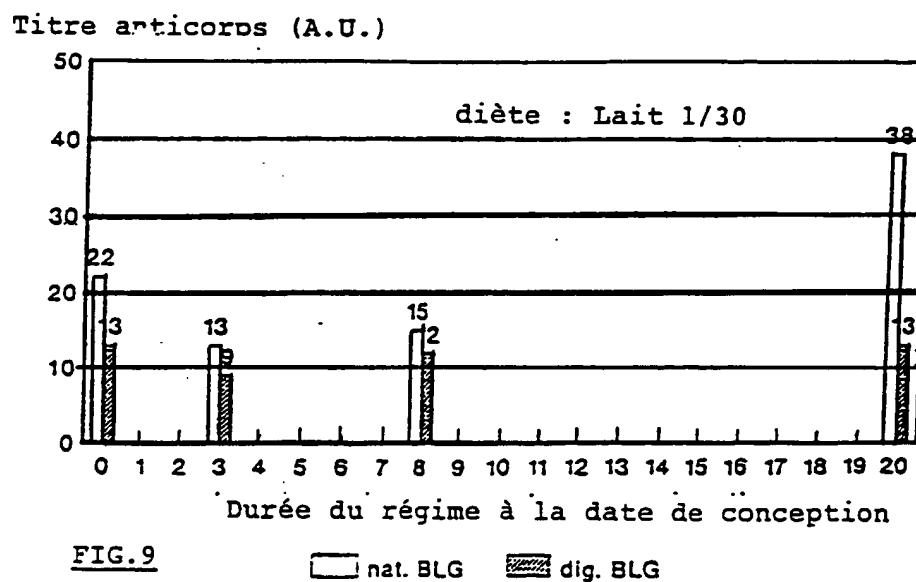


FIG.9

4/26

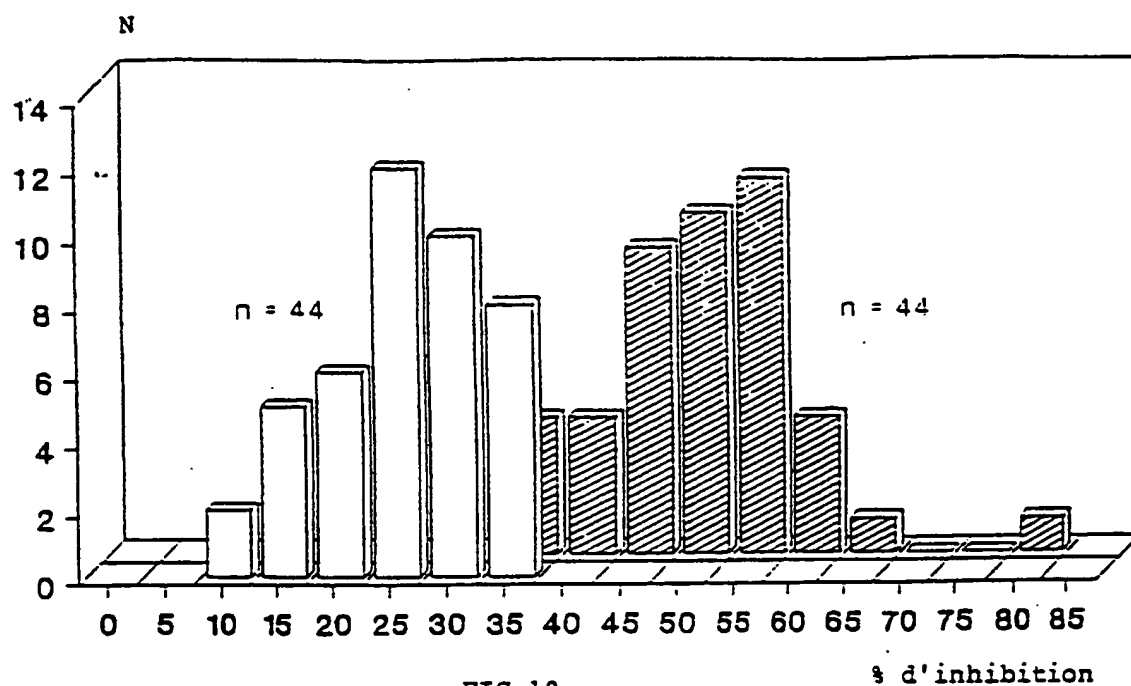


FIG. 10

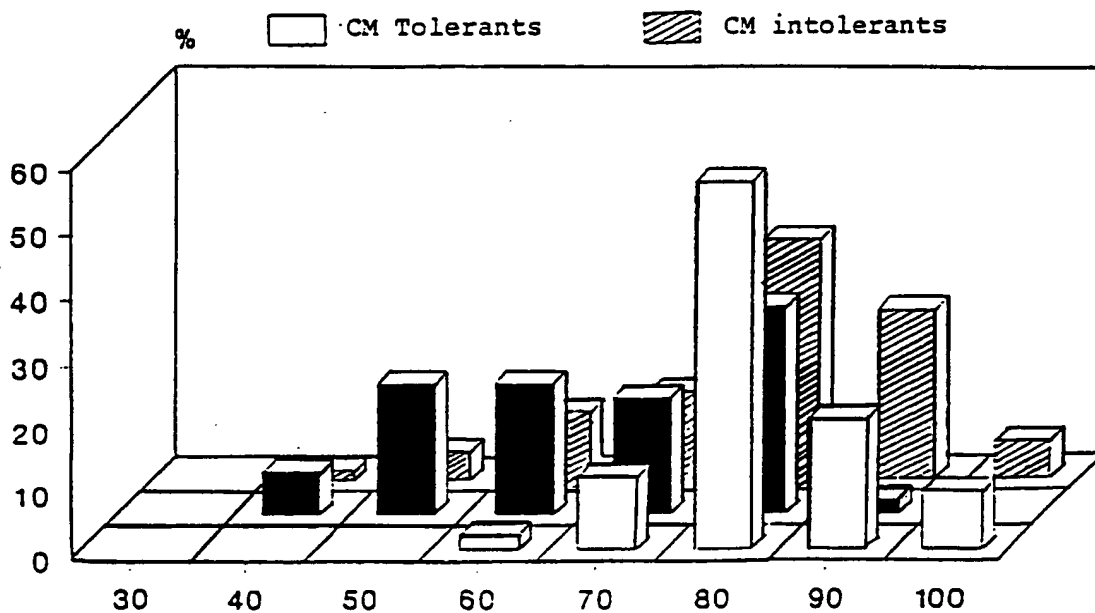


FIG. 13

CM Tolerants

CM intolerants

B.D.

n = 44

n = 44

n = 65

5/26

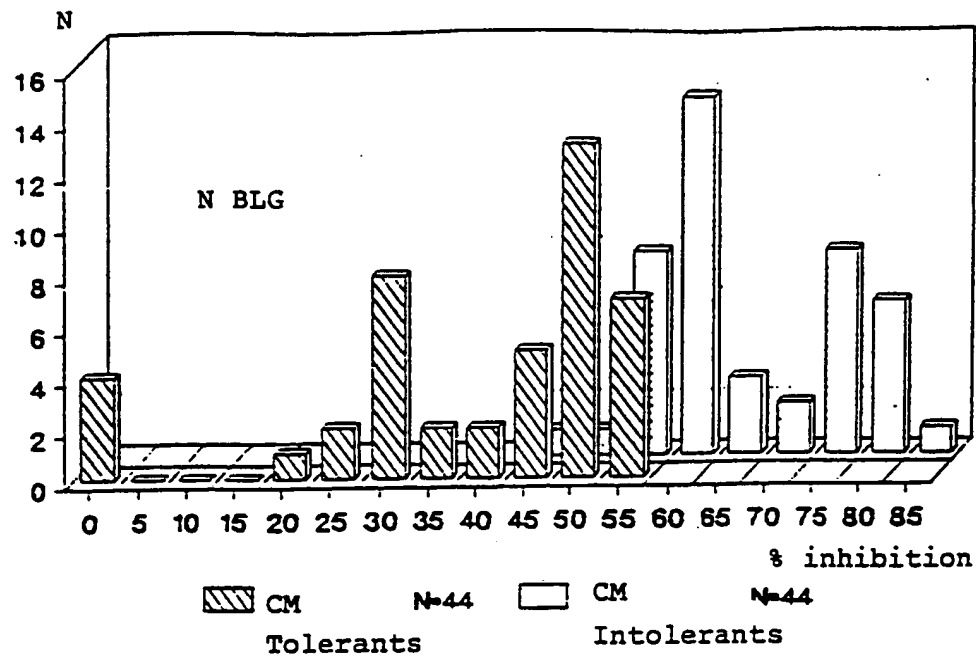


FIG.11

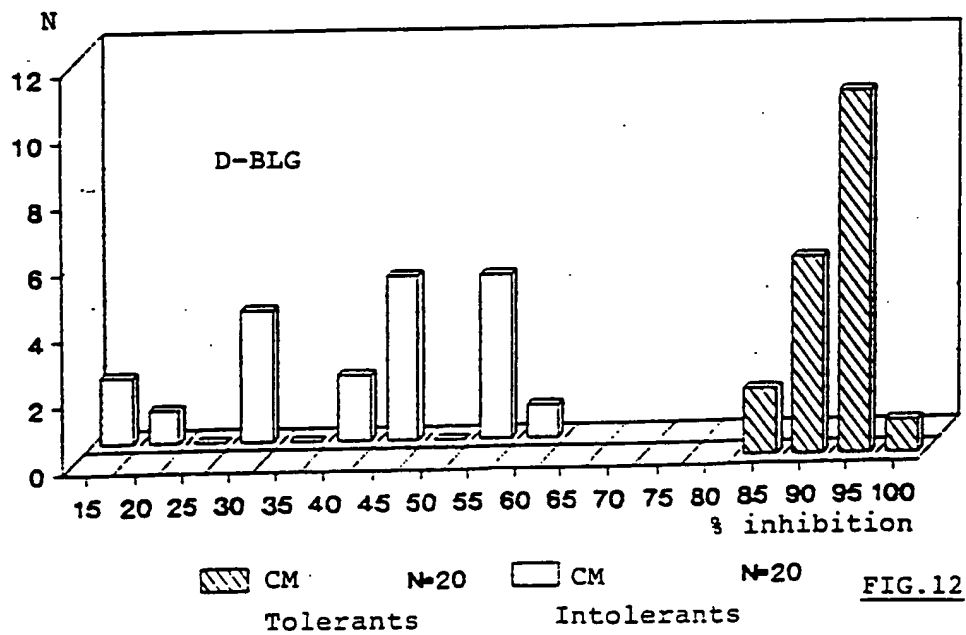


FIG.12

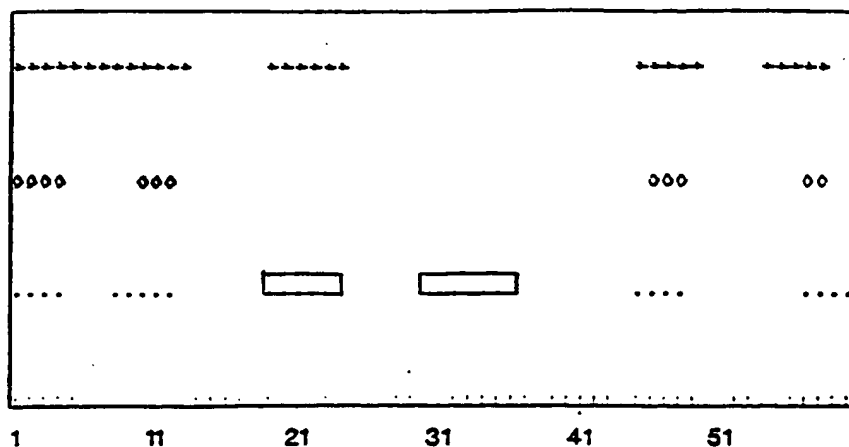


FIG. 14

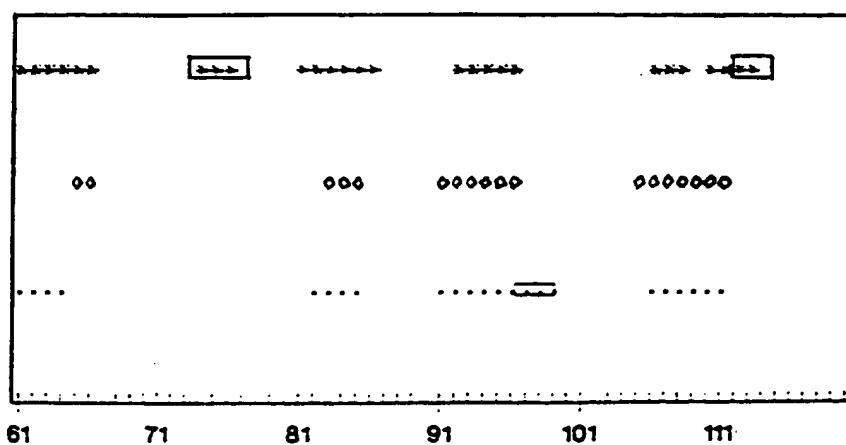


FIG. 15

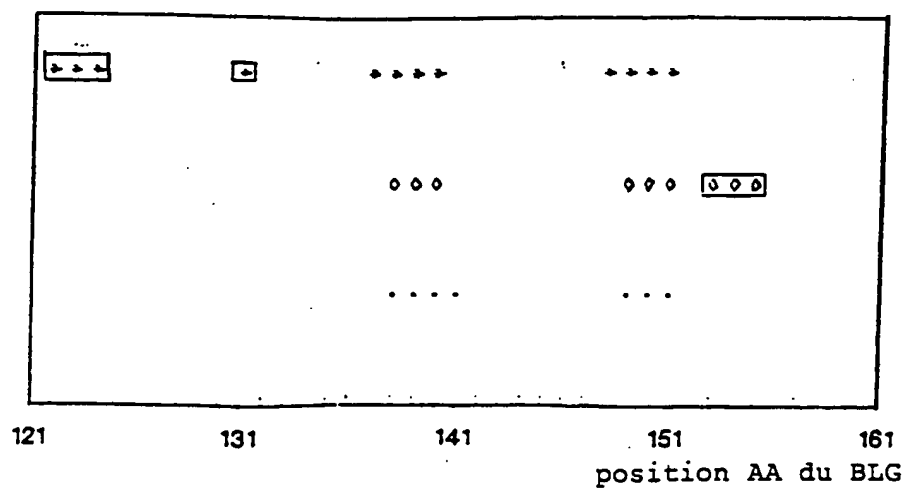


FIG. 16

• Cancer • Sujets Sains • Allergiques

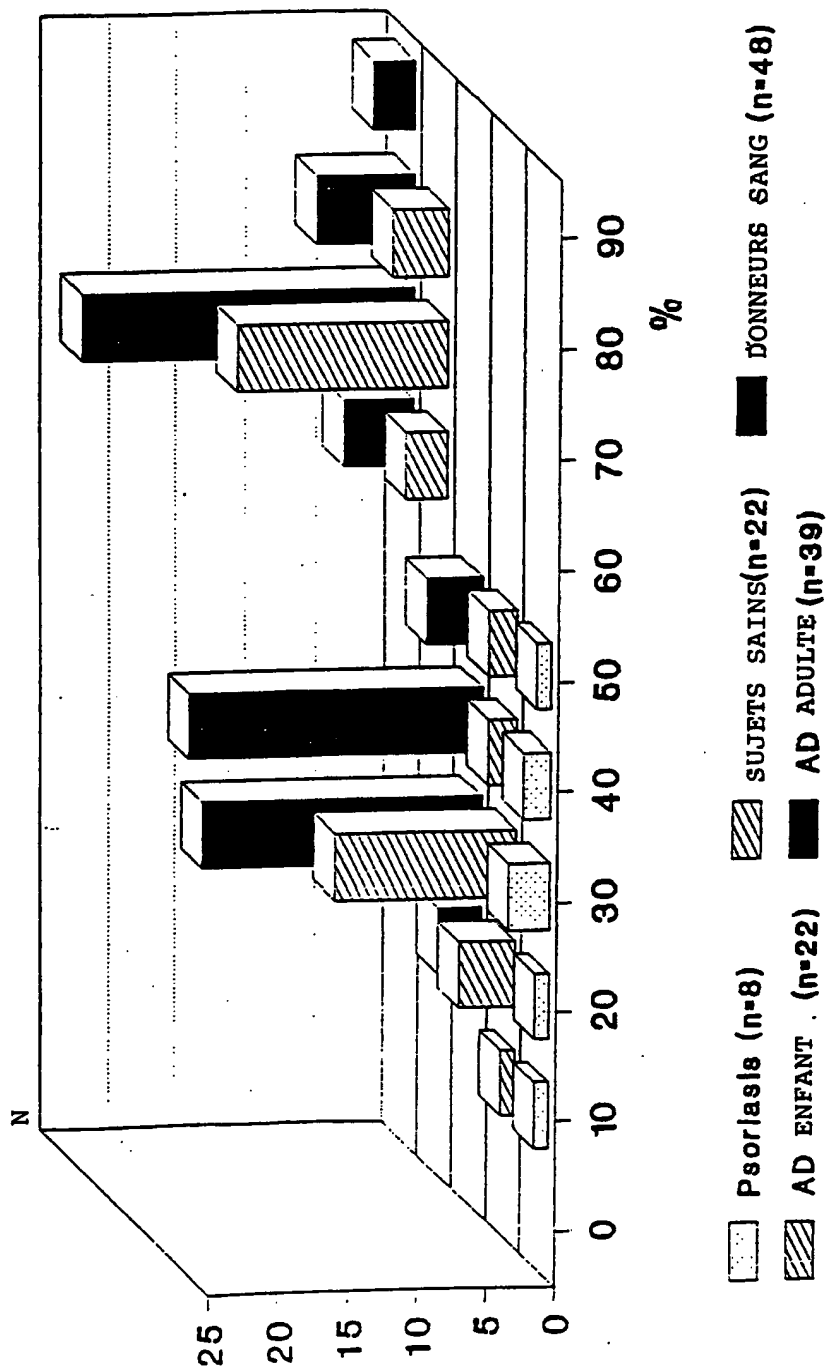


FIG.17

8/26

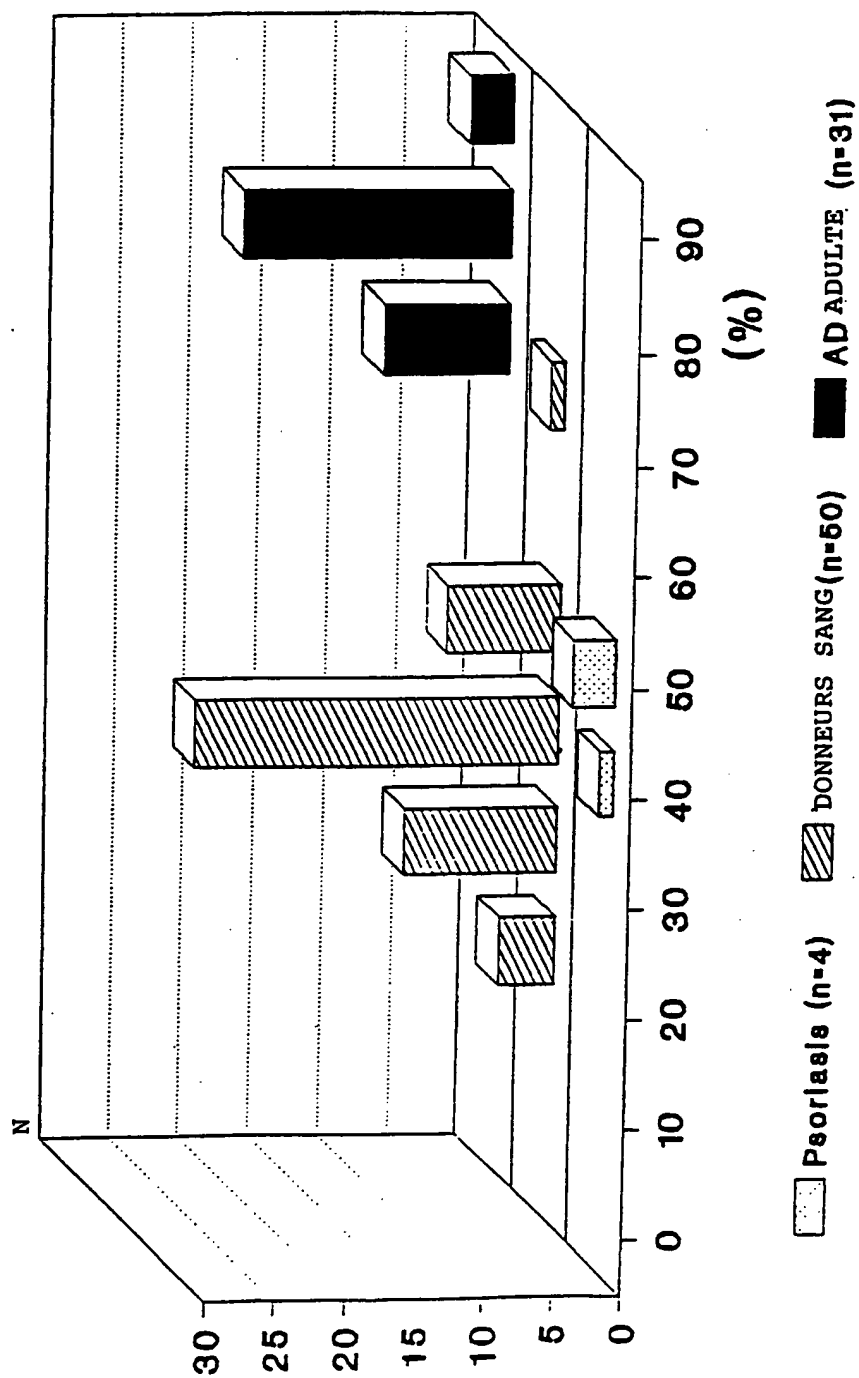


FIG. 18

9/26

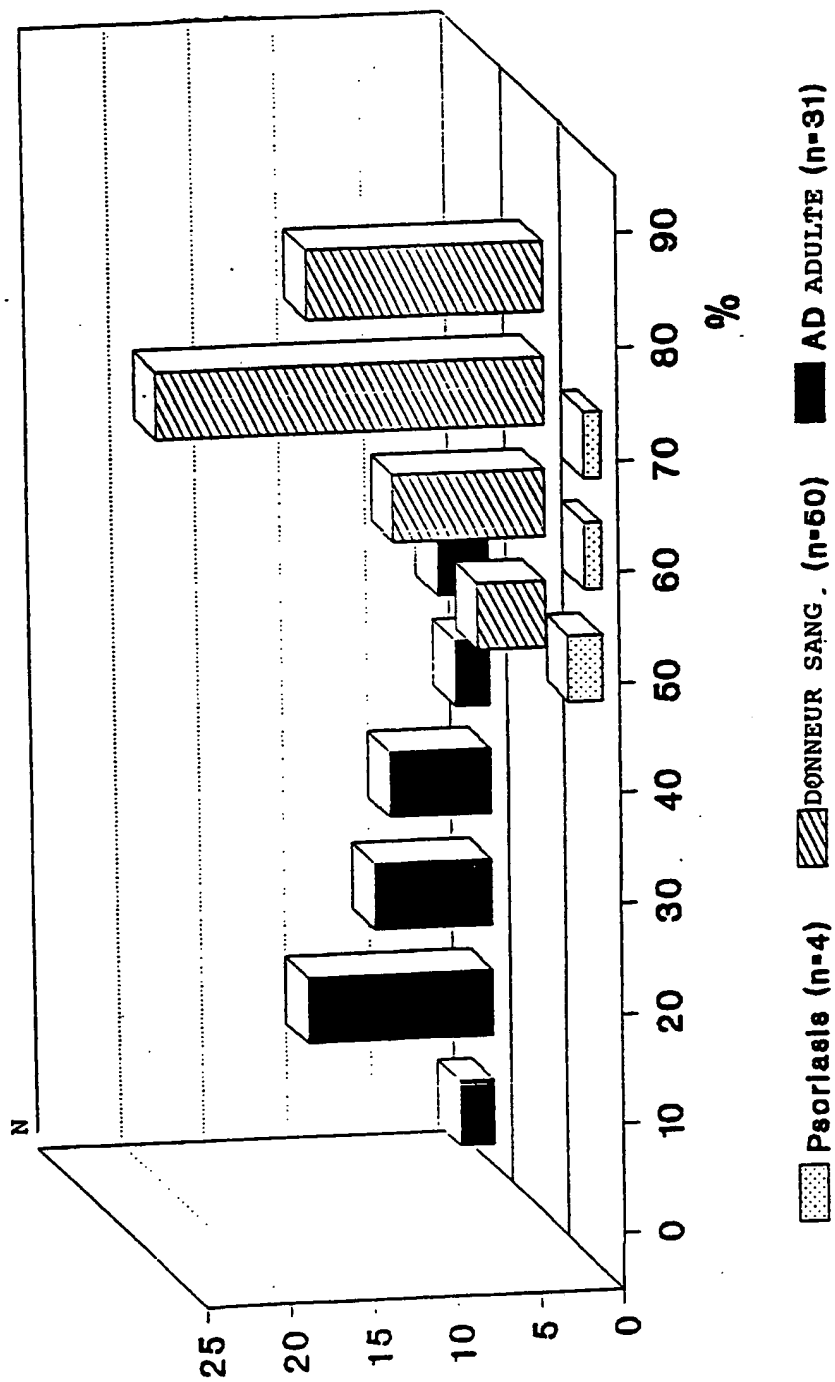


FIG.19

10/26

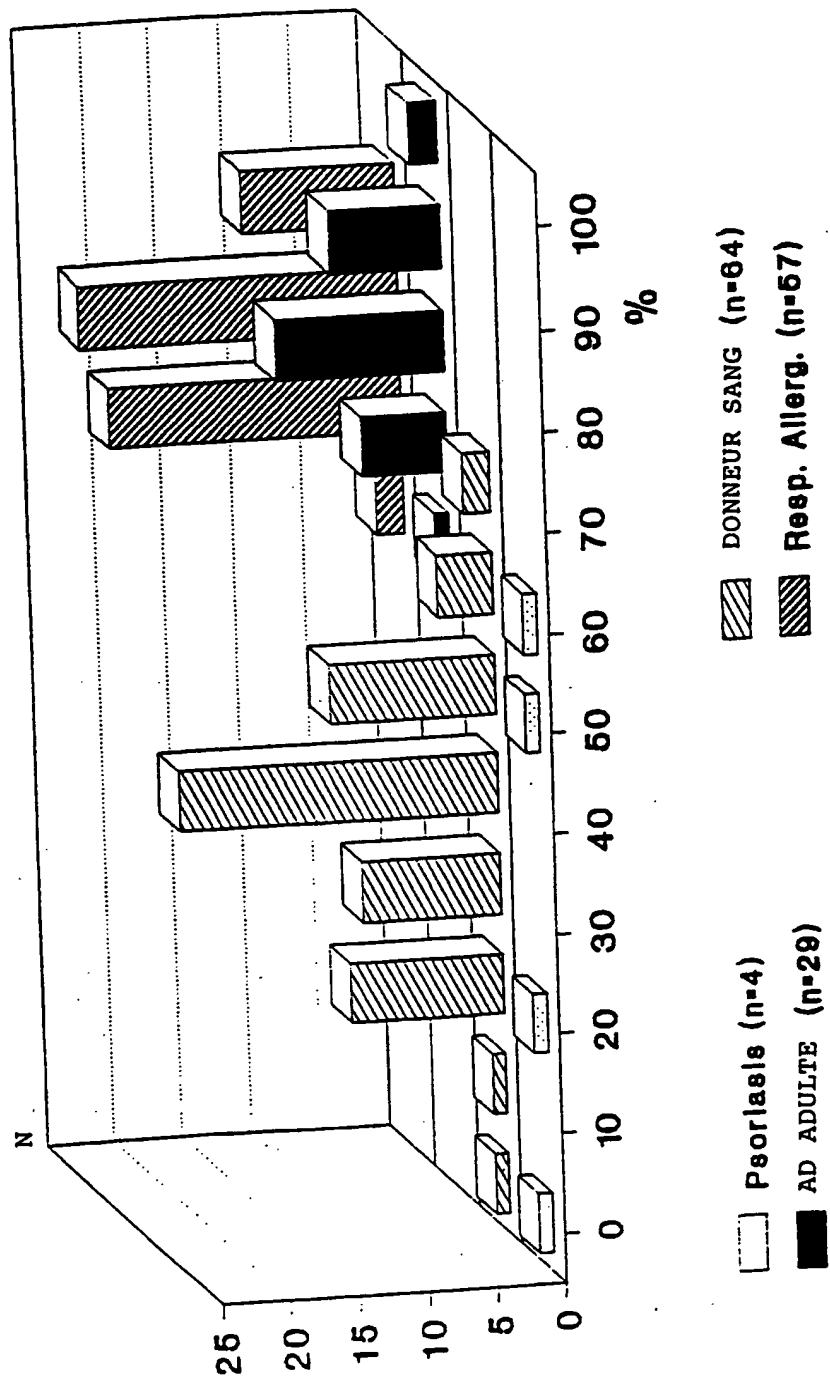


FIG. 20

11/26

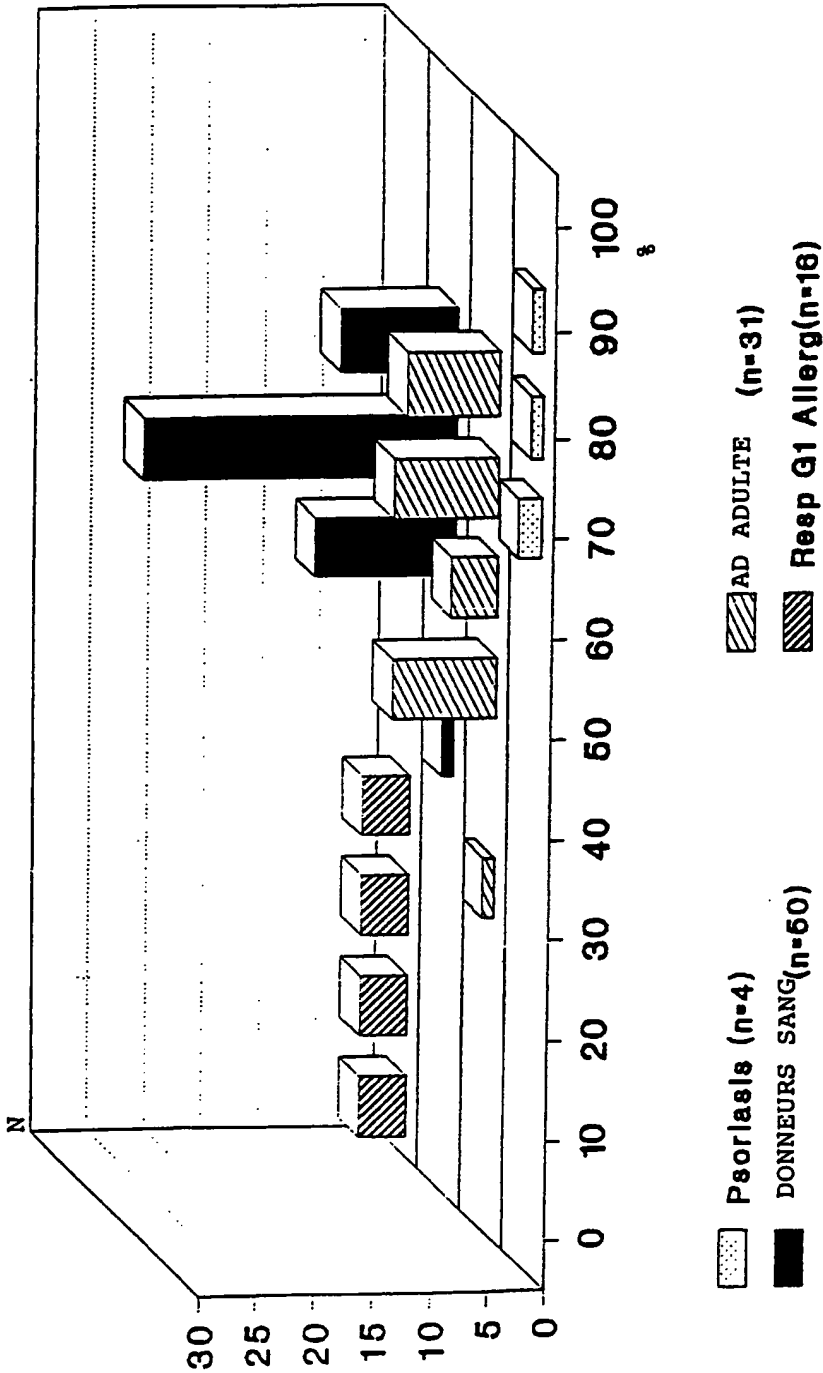


FIG. 21

anthoxanthum odoratum (G1)

12/26

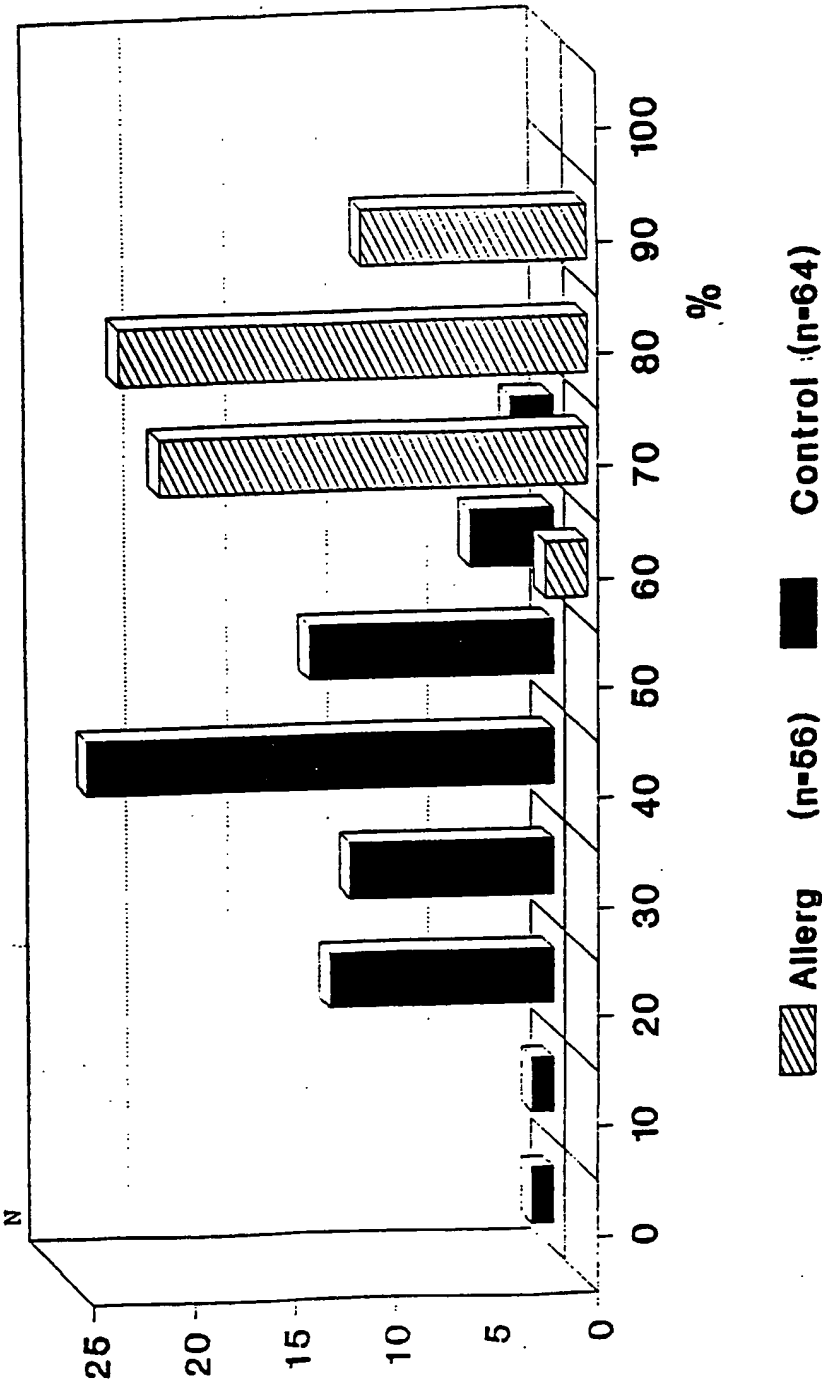


FIG.22

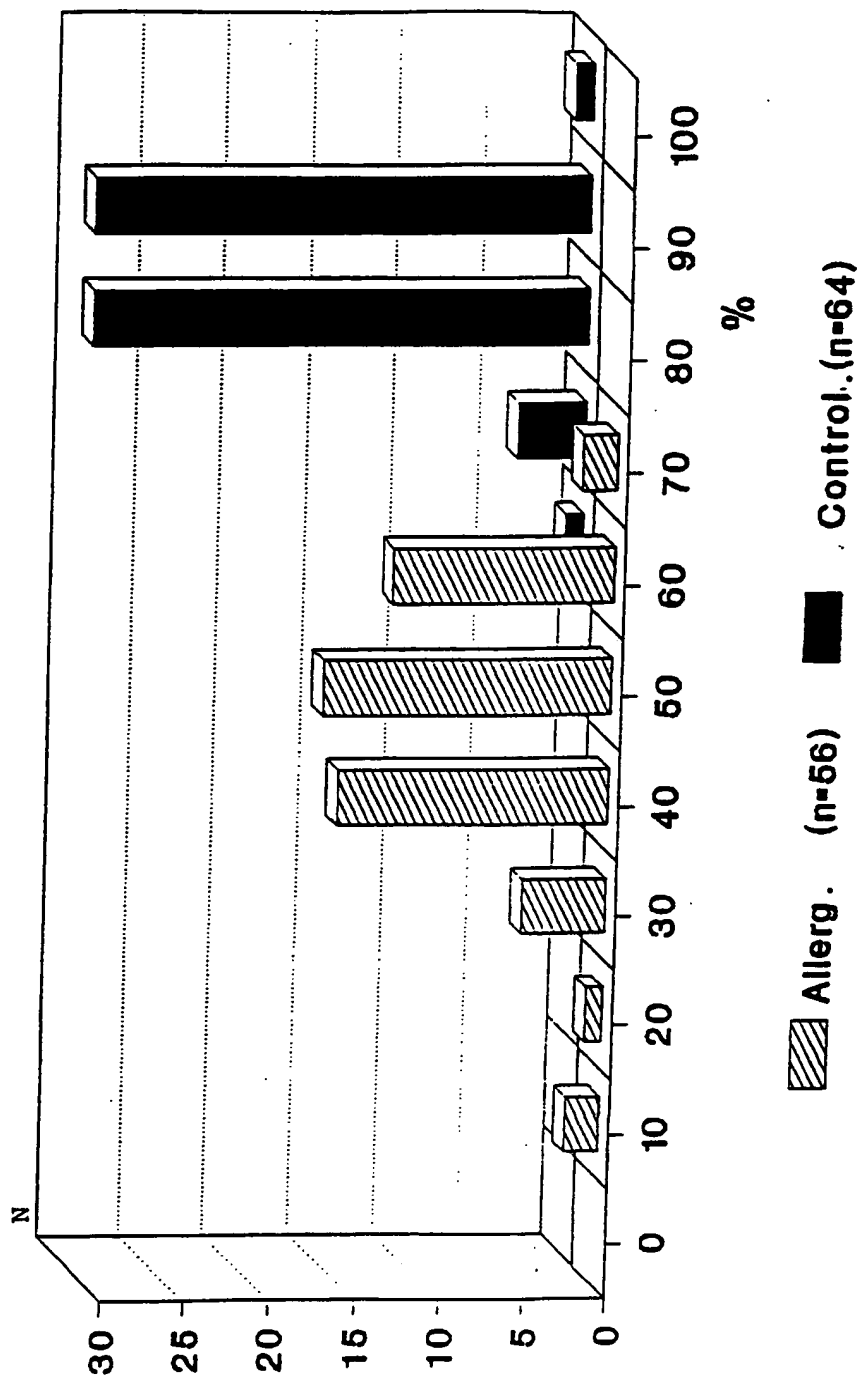


FIG. 23

14/26

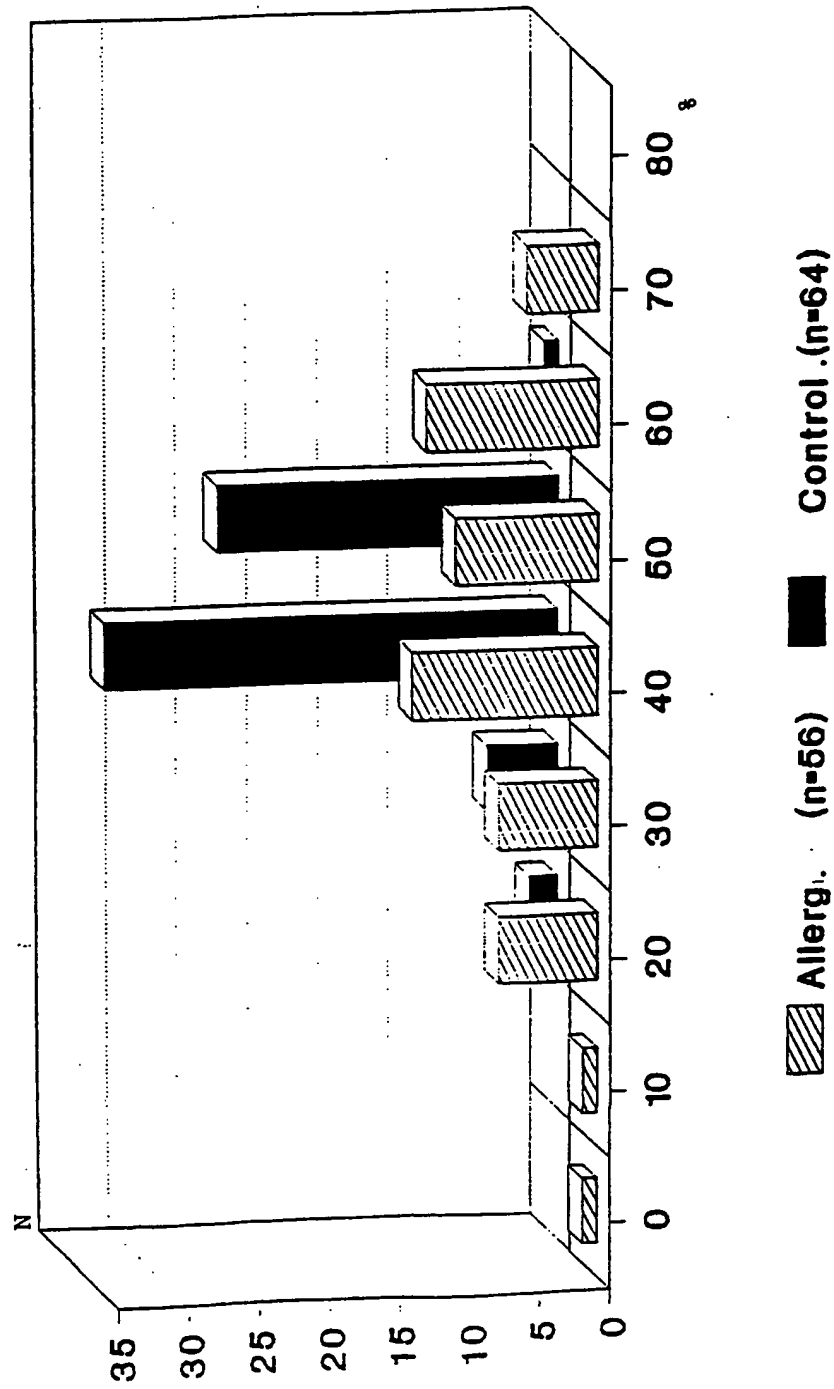


FIG. 24

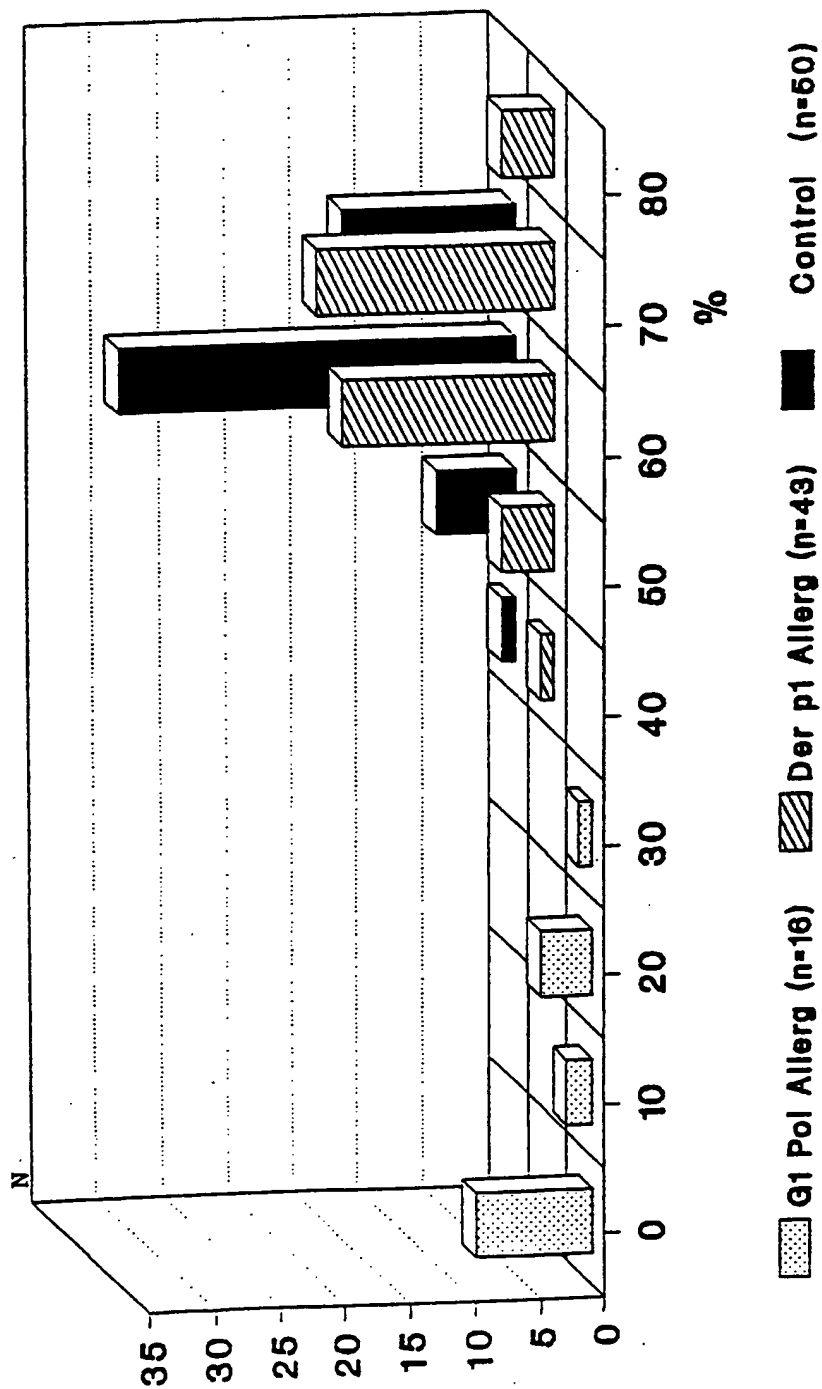


FIG. 25

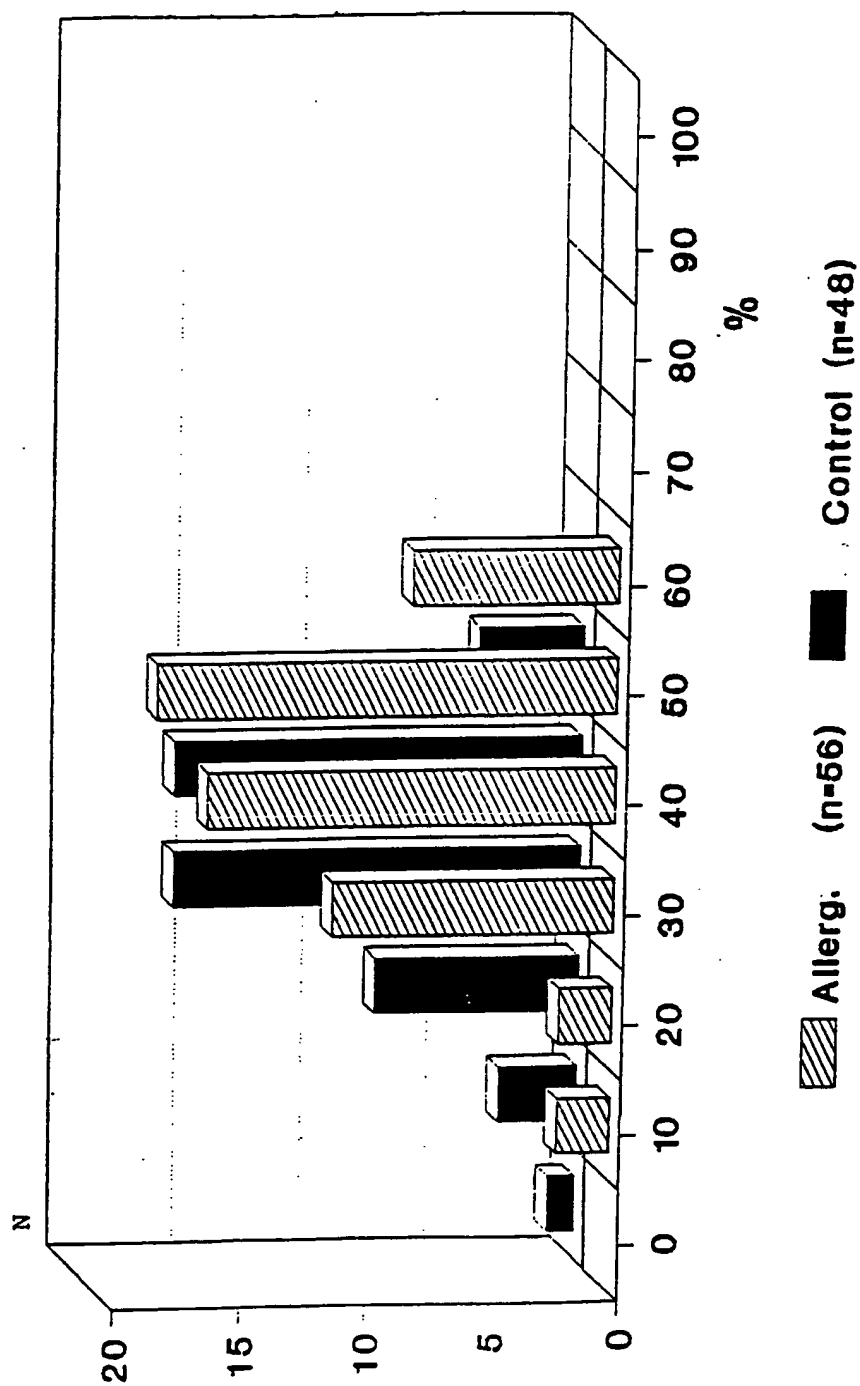


FIG. 26

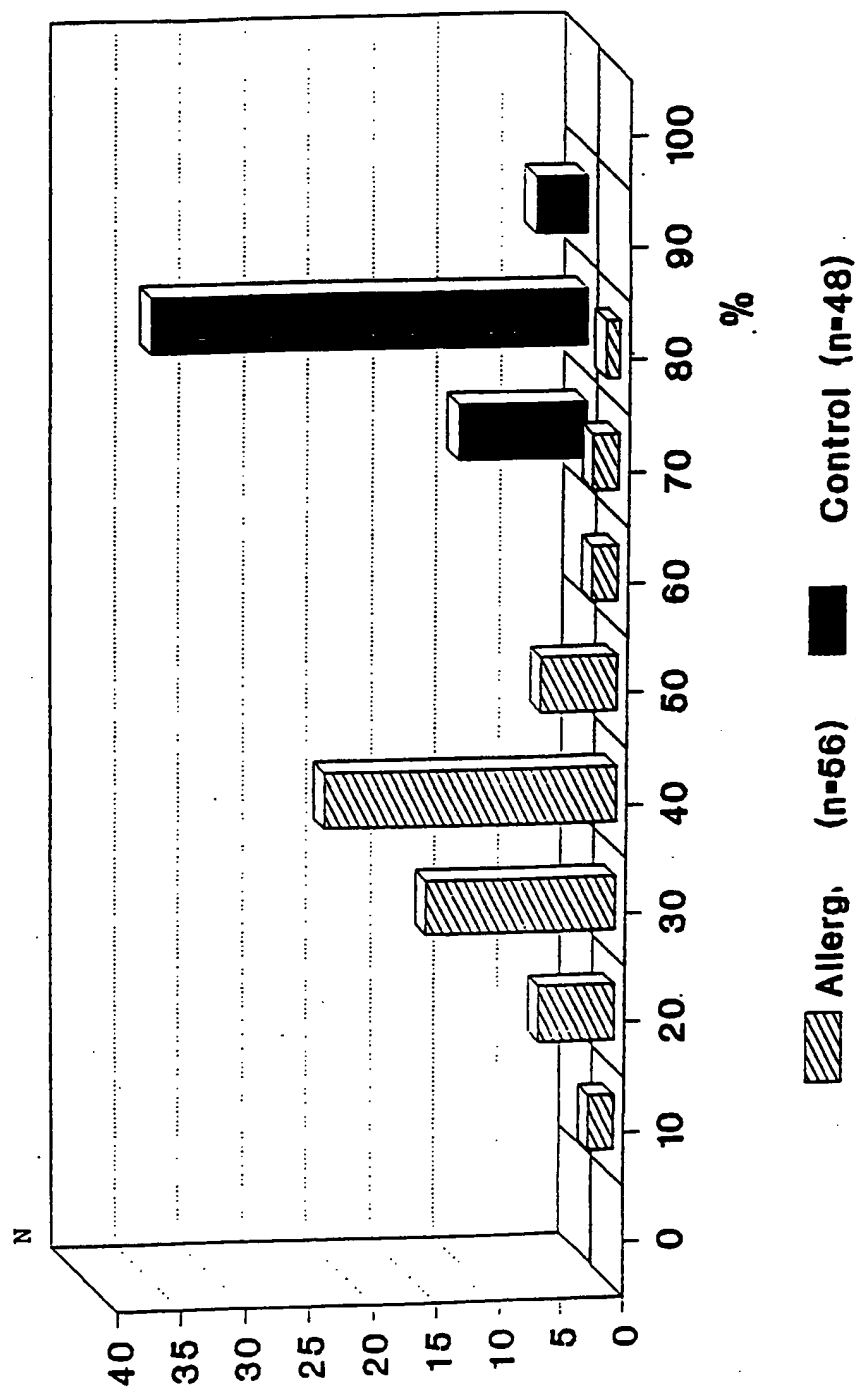
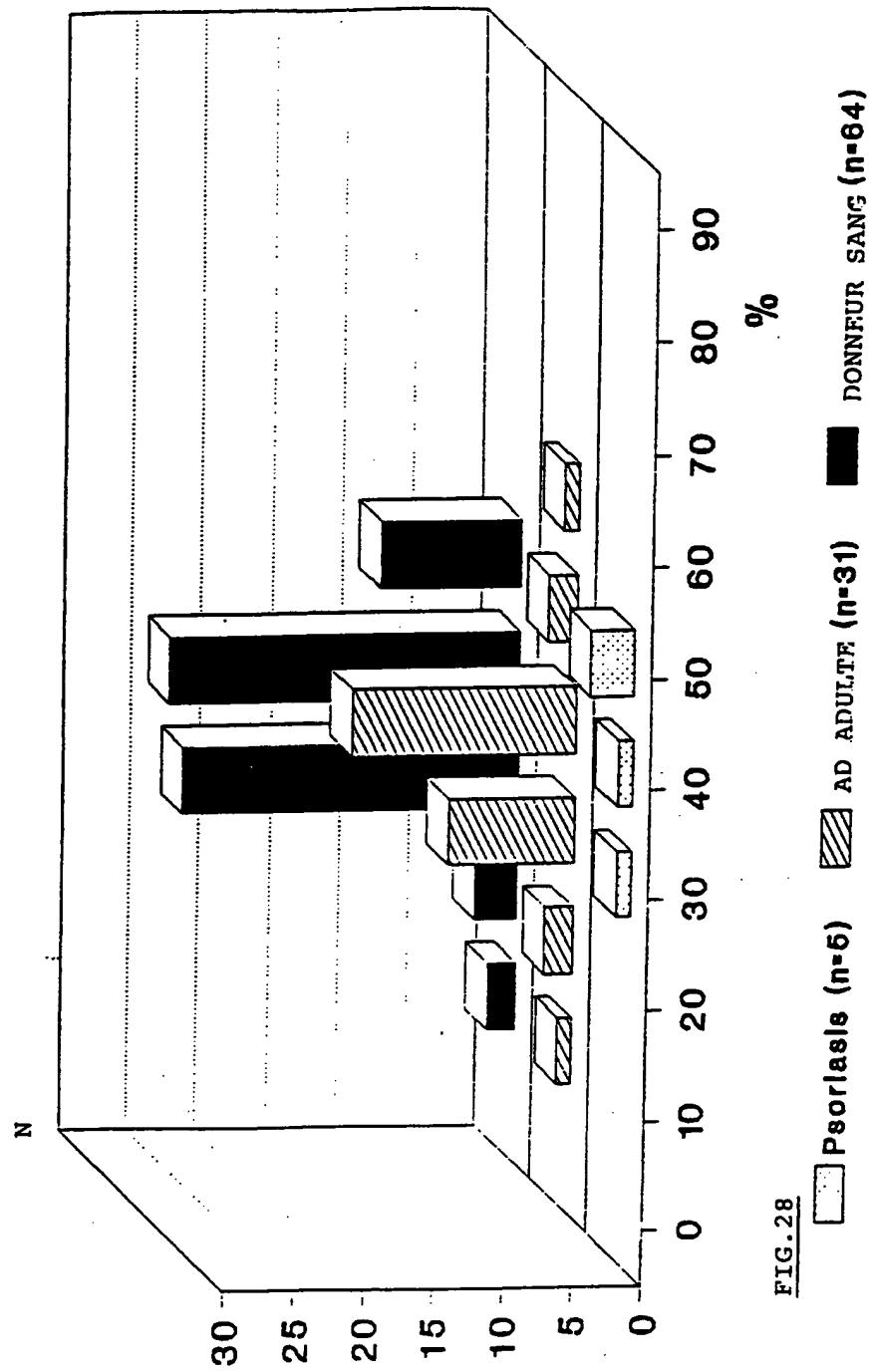


FIG. 27



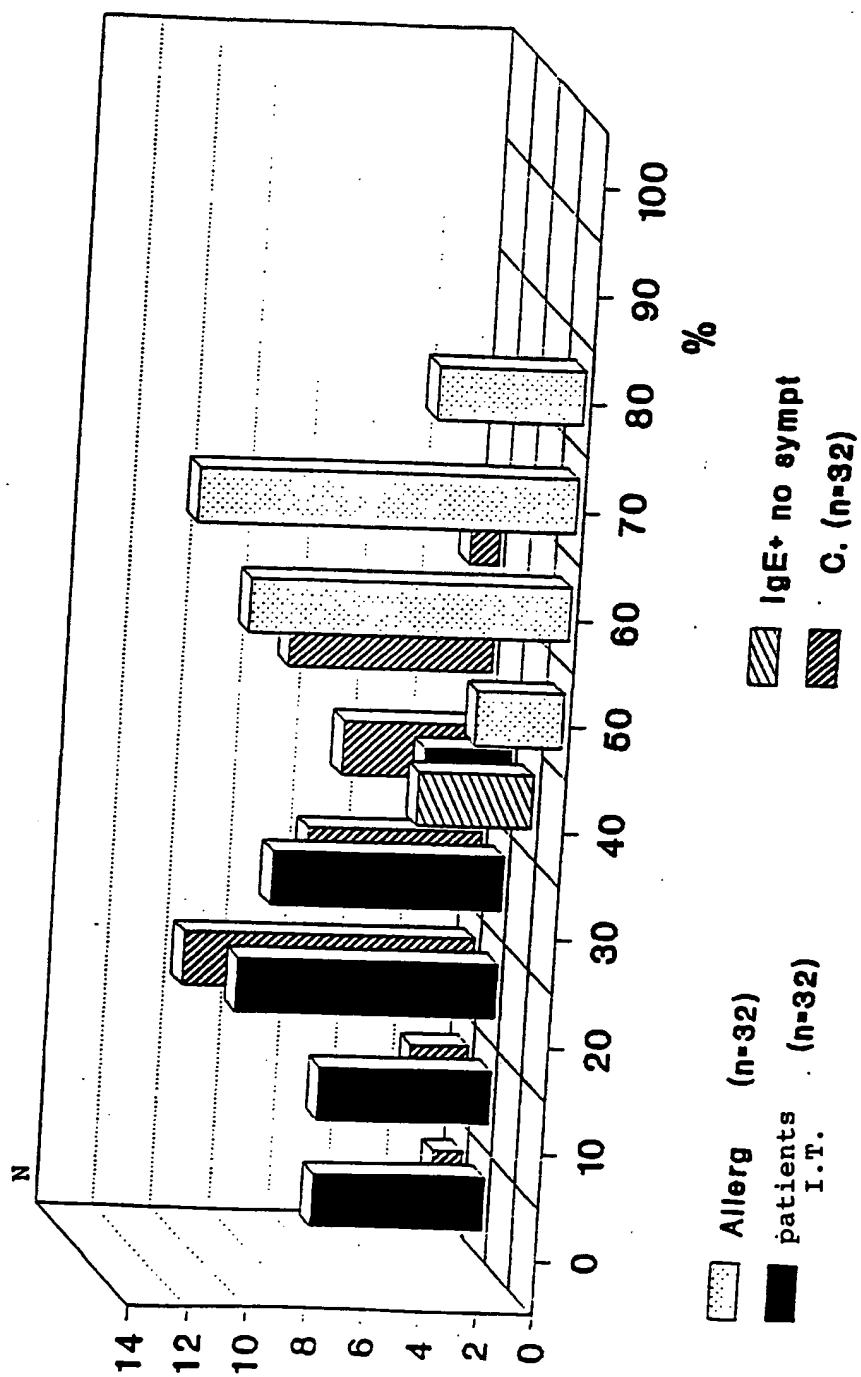


FIG. 29

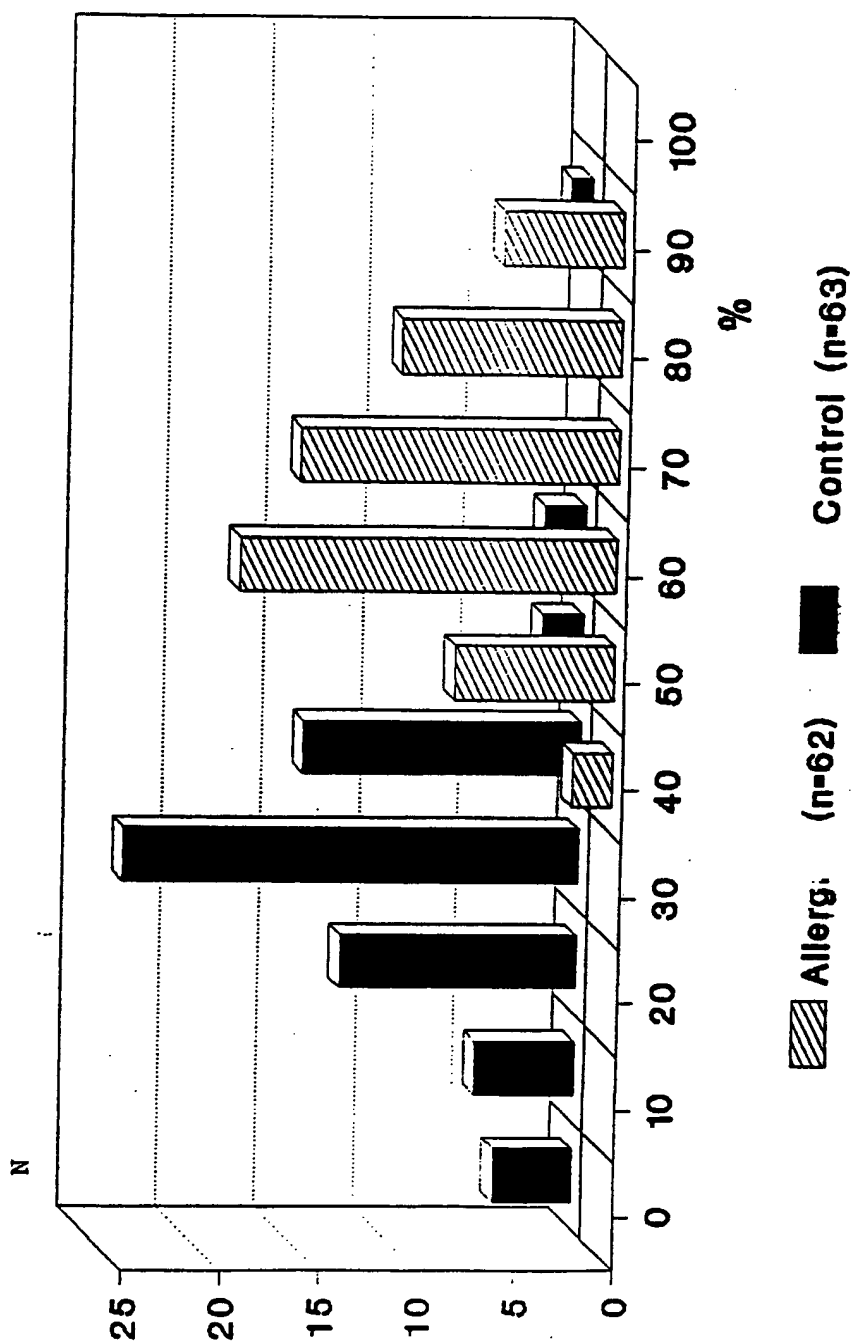


FIG.30

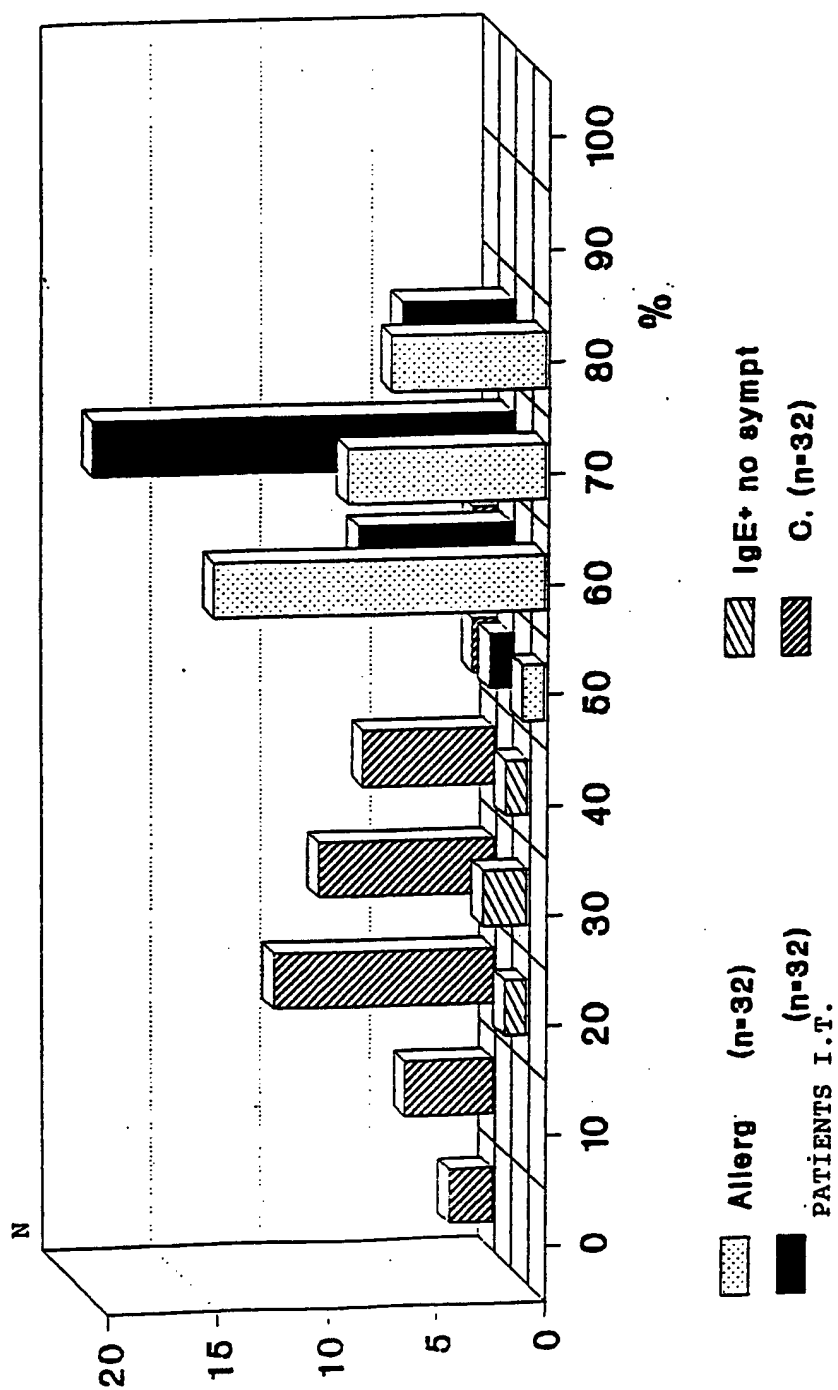


FIG. 31

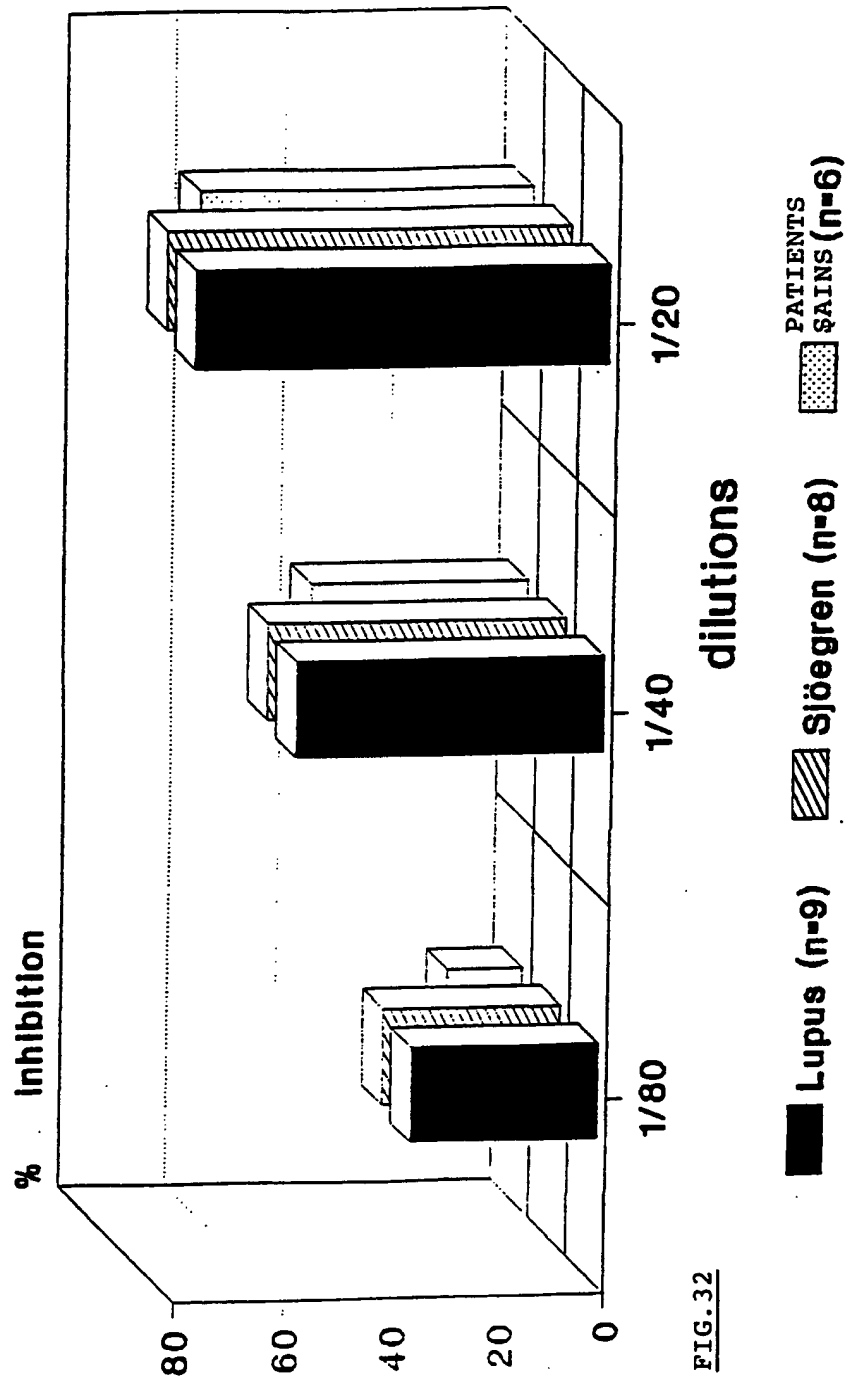


FIG. 32

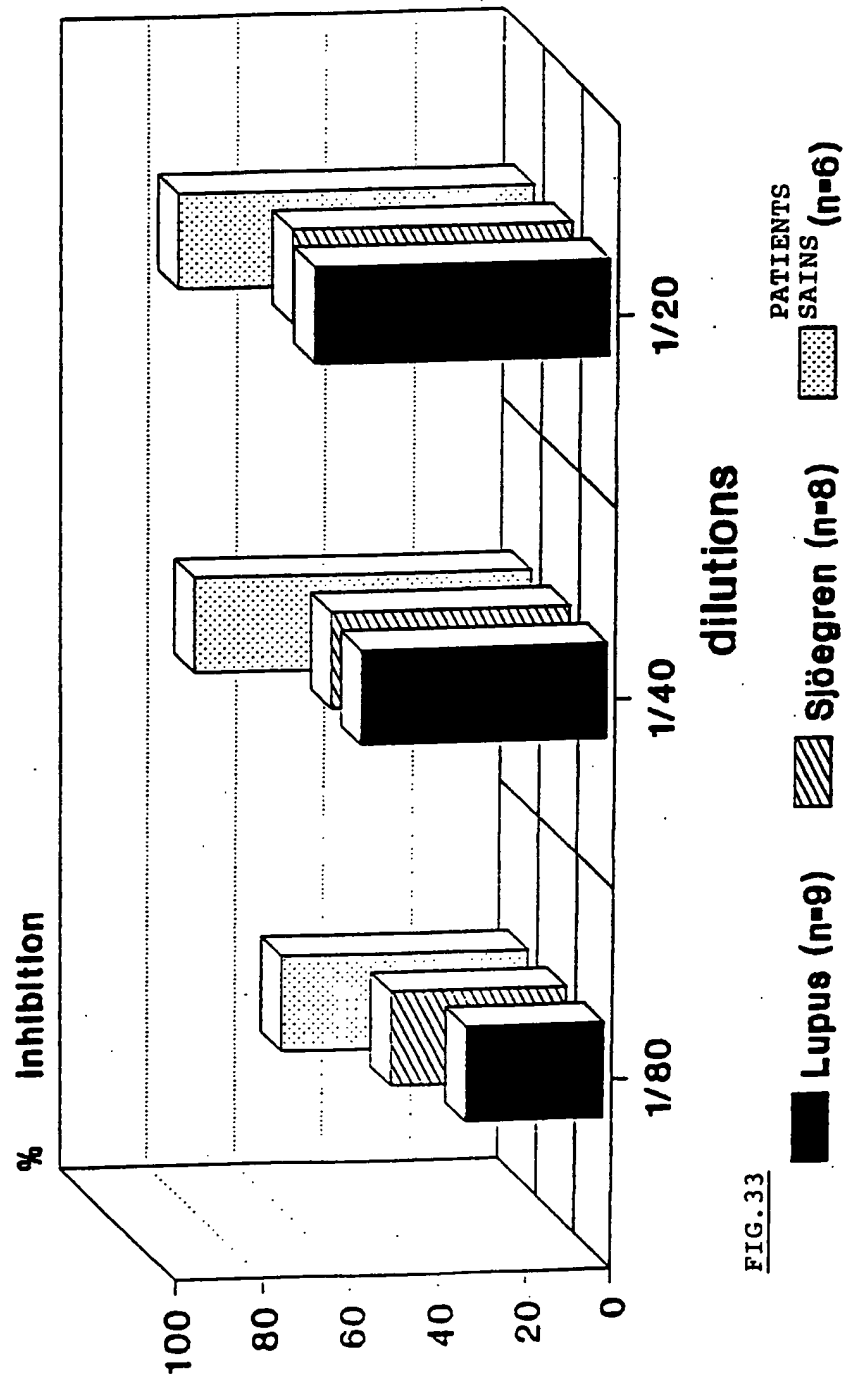


FIG. 33

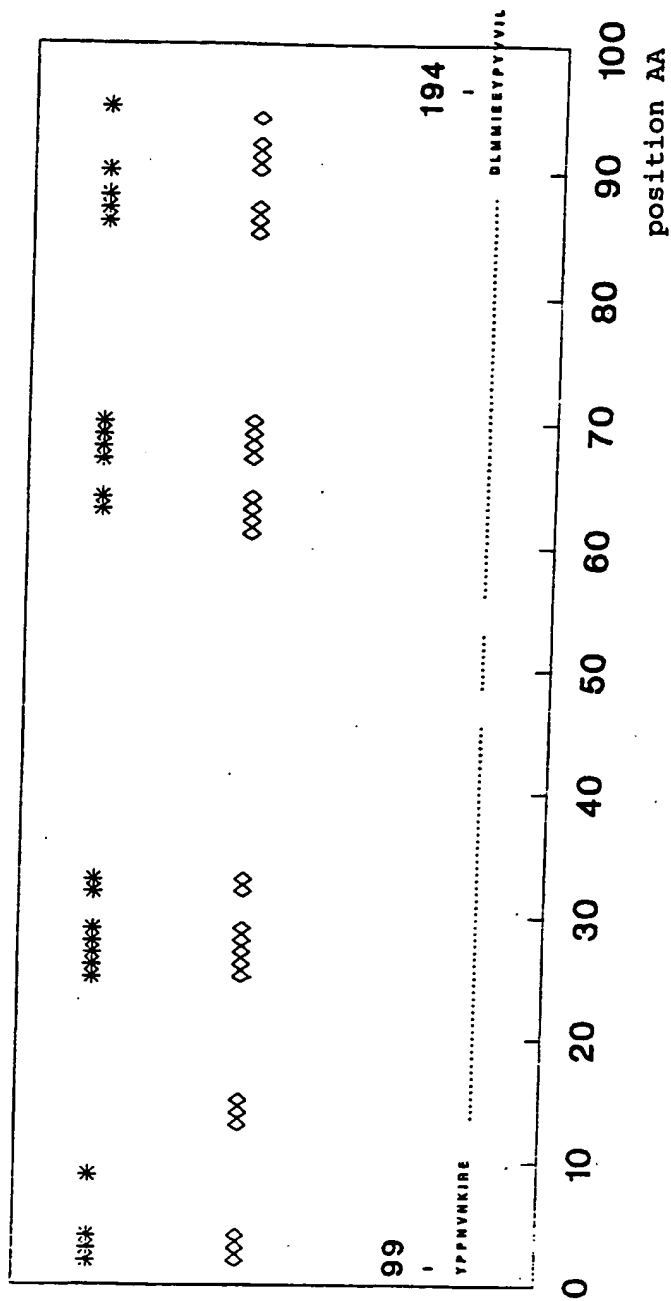
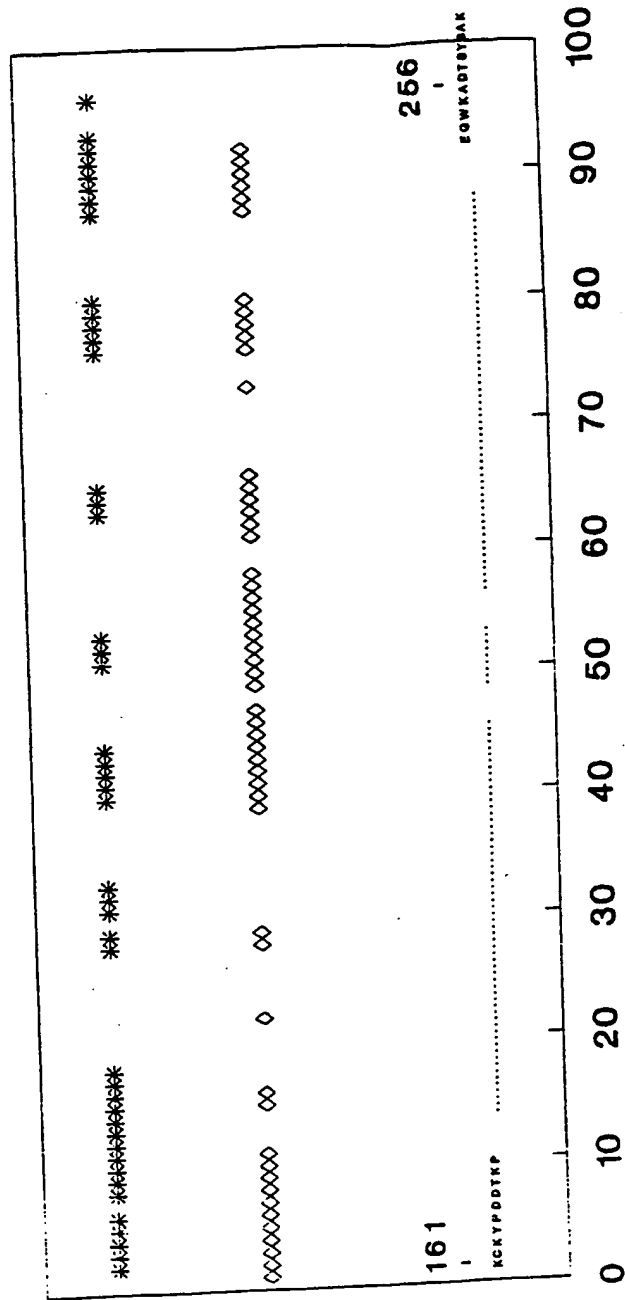


FIG. 34 PATIENTS (Control) * Allerg. SAINS

25/26



◇ PATIENTS (Control) * Allerg.

FIG.35

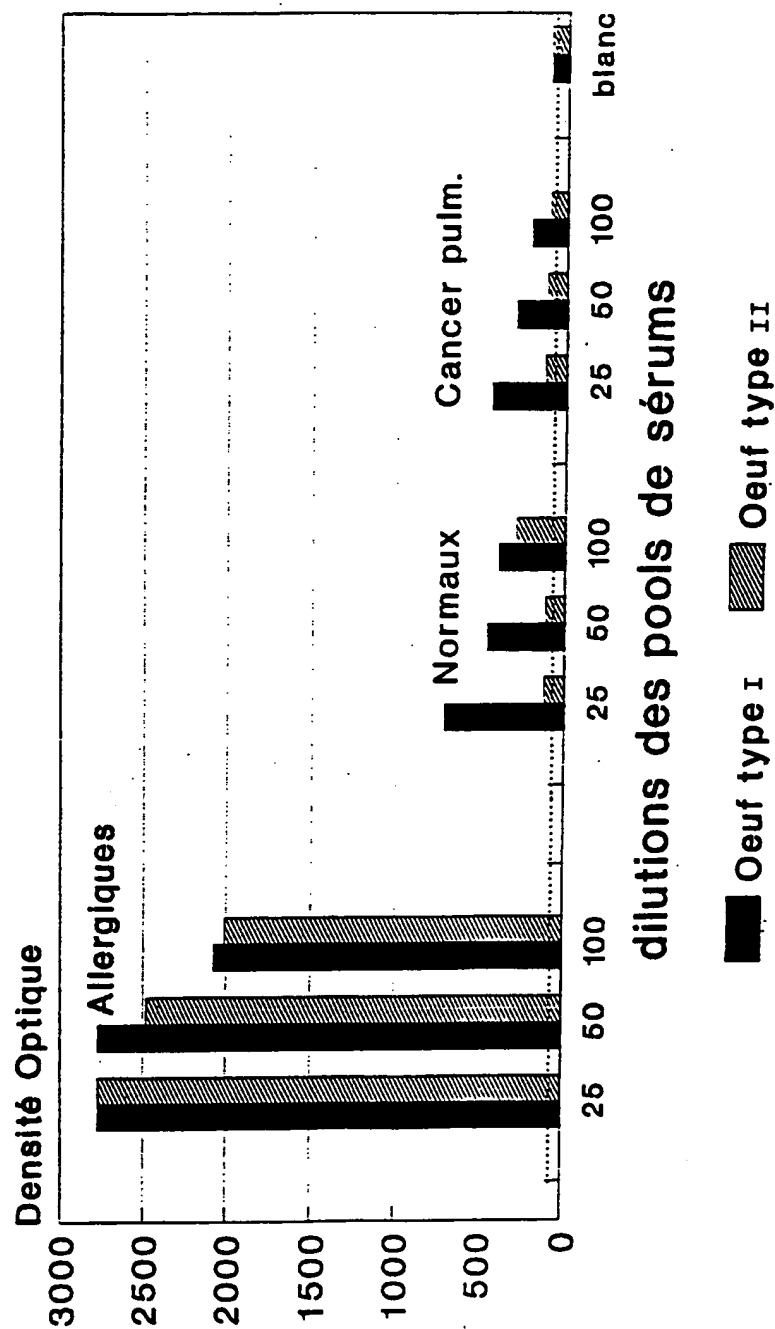


FIG. 36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/BE 96/00052

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 G01N33/574 G01N33/564 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO,A,95 33770 (REPLICON CORPORATION & DANA FARBER CANCER INSTITUTE) 14 December 1995 see page 5, line 1 - line 17 see page 7, line 1 - line 13 see page 27, line 18 - page 30, line 13 see page 31, line 1 - page 35, line 13	1-5,7-9, 18,23-25
Y,P	---	6,16,17, 19-22
Y	EP,A,0 629 350 (SANDOZ NUTRITION LTD) 21 December 1994 cited in the application see the whole document	6,16,17, 19-22
A	---	10-15
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 September 1996

Date of mailing of the international search report

07.10.1996

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Bohemen, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/BE 96/00052

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	<p>CANCER, vol. 77, no. 4, 15 February 1996, BETHESDA MD USA, pages 657-664, XP000603241 A. MICHILIS ET AL.: "Fine tuning of epitopic dominance induced by lung cancer on the IgG response to bovine betalactoglobulin." see the whole document -----</p>	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/BE 96/00052

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9533770	14-12-95	AU-A- 2692095	04-01-96
EP-A-629350	21-12-94	AU-A- 6471494	22-12-94
		CA-A- 2125793	17-12-94
		JP-A- 7101873	18-04-95

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De le Internationale No
PCT/BE 96/00052

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 6 G01N33/574 G01N33/564 G01N33/68		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 G01N		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X,P	WO,A,95 33770 (REPLICON CORPORATION & DANA FARBER CANCER INSTITUTE) 14 Décembre 1995 voir page 5, ligne 1 - ligne 17 voir page 7, ligne 1 - ligne 13 voir page 27, ligne 18 - page 30, ligne 13 voir page 31, ligne 1 - page 35, ligne 13	1-5,7-9, 18,23-25
Y,P	---	6,16,17, 19-22
Y	EP,A,0 629 350 (SANDOZ NUTRITION LTD) 21 Décembre 1994 cité dans la demande voir le document en entier	6,16,17, 19-22
A	---	10-15

	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 27 Septembre 1996		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 07-10-1996
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Van Bohemen, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De le Internationale No
PCT/BE 96/00052

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
T	<p>CANCER, vol. 77, no. 4, 15 Février 1996, BETHESDA MD USA, pages 657-664, XP000603241 A. MICHILIS ET AL.: "Fine tuning of epitopic dominance induced by lung cancer on the IgG response to bovine betalactoglobulin." voir le document en entier -----</p>	1-25

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs à : Membres de familles de brevets

Des : e Internationale No

PCT/BE 96/00052

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9533770	14-12-95	AU-A- 2692095	04-01-96
EP-A-629350	21-12-94	AU-A- 6471494	22-12-94
		CA-A- 2125793	17-12-94
		JP-A- 7101873	18-04-95